

**İKİ FARKLI ÜRETİM YÖNTEMİYLE ÜRETİLEN
BEYAZ PEYNİRLERDE PROTEOLİZ VE LİPOLİZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Tülay CİNBAŞ
(506011286)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 27 Temmuz 2004
Tezin Savunulduğu Tarih : 27 Temmuz 2004**

**Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr. Meral KILIÇ
Diğer Jüri Üyeleri : Prof.Dr. Necla ARAN (İTÜ)
Prof.Dr. Kamil BOSTAN (İ.Ü.)**

TEMMUZ 2004

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmam sırasında beni yönlendiren, yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Meral KILIÇ'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca eğitimim sırasında emeği geçen tüm hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmam sırasında kullandığım peynir örneklerini üretmek için pilot tesislerini kullanmama izin veren Sütaş A.Ş.'ye teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında manevi desteklerini gördüğüm Gıda Yük. Mühendisi Nalan DEMİR'e ve bünyesinde çalıştığım İkbal Gıda A.Ş yöneticilerine ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmam sırasında ve tüm hayatım boyunca bana maddi, manevi destek olan aileme ve sevgili eşime teşekkür ederim.

Nisan, 2004

Tülay CİNBAŞ

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Beyaz Peynirin Tanımı ve Özellikleri	3
2.2. Beyaz Peynirin Üretimi	4
2.3. Peynirde Olgunlaşma	6
2.3.1. Glikoliz	6
2.3.2. Proteoliz	6
2.3.3. Lipoliz	18
2.4. Beyaz Peynirde Olgunlaşma	20
2.4.1. Beyaz peynirde proteoliz	21
2.4.2. Beyaz peynirde lipoliz	22
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1. Materyal	24
3.2. Peynir Üretimi	24
3.2.1. Endüstriyel Beyaz peynir üretimi	24
3.2.2. Geleneksel Beyaz peynir üretimi	25
3.3. Uygulanan Analizler	25
3.3.1. Kimyasal Analizler	25
3.3.2. Proteoliz Analizleri	26
3.3.2.1. Suda çözünür azot analizi	26
3.3.2.2. TCA-çözünür azot analizi	26
3.3.2.3. Serbest amino grupları analizi	26
3.3.3. Lipoliz Analizi	27
3.3.3.1. Serbest yağ asiti analizi	27
3.4. İstatistiksel Analiz	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	28

4.1. Bileşim	28
4.1.1. Nem	28
4.1.2. Yağ	29
4.1.3. Tuz	29
4.1. 4. Toplam azot	30
4.1. 5. Asitlik	30
4.1.6. pH	31
4. 2. Proteoliz	32
4. 2.1. Suda Çözünür Azot	33
4. 2.2. TCA-Çözünür Azot	35
4. 2.3. Toplam Serbest Amino Grupları	36
4. 3.Lipoliz	36
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	44
EKLER	54
ÖZGEÇMİŞ	66

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Beyaz peynirin ürün özellikleri	3
Tablo 2.2. Farklı çöktürme tekniği kullanılarak elde edilen çözünür azot fraksiyonlarının kompozisyonu	11
Tablo 2.3. Peynirdeki proteolizin ölçüm metotları	14
Tablo 3.1. Peynir üretiminde kullanılan sütün kimyasal özellikleri.....	24
Tablo 4.1. Endüstriyel ve Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerin bileşim özellikleri	28
Tablo 4.2. Endüstriyel ve Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerin asitlik ve pH değerleri	31
Tablo A.1. Çeşitli glisin konsantrasyonlarında ölçülen absorban değerleri	48
Tablo B.1. Standart çözeltisindeki yağ asitlerinin alıkonma süreleri	50
Tablo C.1. Geleneksel ve endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde proteoliz değerleri	51
Tablo D.1. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde bulunan serbest yağ asidi miktarları.....	52
Tablo E.1. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde nem sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	53
Tablo E.2. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde nem / yağsız madde sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	53
Tablo E.3. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde yağ sonuçlarının varyans analiz tablosu	53
Tablo E.4. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde yağ / kuru madde sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	54
Tablo E.5. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde tuz sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	54
Tablo E.6. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde tuz / nem sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	54
Tablo E.7. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde toplam azot sonuçlarının varyans analiz tablosu	55
Tablo E.8. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde protein / kuru madde sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	55
Tablo E.9. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde pH sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	55
Tablo E10. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde asitlik sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	56

Tablo E.11.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde TCA-çözünür azot sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	56
Tablo E.12.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde suda çözünür azot sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	56
Tablo E.13.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde toplam serbest amino grupları sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	57
Tablo E.14.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C6:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	57
Tablo E.15.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C8:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	57
Tablo E.16.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C10:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	58
Tablo E.17.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C12:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	58
Tablo E.18.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C14:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	58
Tablo E.19.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C16:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	59
Tablo E.20.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C18:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	59
Tablo E.21.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C18:1 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	59
Tablo E.22.	Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C18:2 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu.....	60

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 : Ülkemizde Beyaz peynir üretimi.....	5
Şekil 2.2 : Kazeinin aminoasitlere hidrolizi.....	9
Şekil 4.1 : Endüstriyel ve geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde suda çözünür azot değeri (%TN)	34
Şekil 4.2 : Endüstriyel ve geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde TCA-çözünür azot değeri (%TN)	35
Şekil 4.3 : Endüstriyel ve geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde toplam serbest aminoasit değeri (g N/kg TN)	36
Şekil 4.4. :Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirin serbest yağ asidi profili.....	38
Şekil 4.5. :Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirin serbest yağ asidi profili.....	39
Şekil A.1 : Çeşitli glisin konsantrasyonlarının, absorbands değerlerine karşı grafiği	49
Şekil B.1 : Yağ asidi metil esterleri standart çözeltisi kromatogramı.....	50

İKİ FARKLI ÜRETİM YÖNTEMİYLE ÜRETİLEN BEYAZ PEYNİRLERDE PROTEOLİZ VE LİPOLİZ

ÖZET

Peynirin yapısı, tat ve aroması kompleks biyokimyasal reaksiyonlar sonucu oluşur. Peynirde olgunlaşma sürecinde meydana gelen en önemli biyokimyasal reaksiyonlar, proteoliz ve lipolizdir. Proteoliz peynirde yapıyı yumuşatmasına ek olarak, oluşan amino asitler ve peptidler yoluyla direk olarak ve tat ve aroma maddelerinin oluşumunda substrat olarak kullanılan amino asitleri sağlayarak dolaylı olarak tat ve aromaya katkıda bulunur. Lipoliz trigliseritlerin parçalanmasıyla açığa çıkan serbest yağ asitleri yoluyla tat ve aromaya direk etkide bulunur.

Beyaz peynir ülkemizde en çok üretilen ve tüketilen peynir türüdür. Ülkemizde klasik ve kültürlü olarak tanımlanan iki farklı Beyaz peynir üretilmektedir. Klasik Beyaz peynir çiğ süt veya düşük sıcaklıkta ısıtılmış sütten starter kültür kullanılmadan geleneksel yöntemle üretilen peynirdir. Kültürlü Beyaz peynir ise yüksek sıcaklıkta ısıtılmış sütten starter kültür kullanılarak endüstriyel yöntem olarak adlandırılabilir bir yöntemle üretilen peynirdir. Bu çalışmada, üretim yönteminin Beyaz peynirde bileşim, proteoliz ve lipoliz etkisi incelenmiştir. Geleneksel üretim yönteminde süte 65°C’de 5 dk ısıtılmış sütten starter kültür kullanılmadan, endüstriyel yöntemde 75°C’de 5 dk ısıtılmış sütten starter kültür kullanılarak peynirler üretilmiştir. Ayrıca endüstriyel üretim yönteminde süte CaCl₂ eklenmiş ve tuzlamada daha düşük konsantrasyonda salamura kullanılmıştır. Üretilen peynirler 4°C’de 90 gün depolanmış ve bileşimleri ve bir aylık aralıklarla proteoliz ve lipoliz düzeyleri belirlenmiştir. Proteoliz düzeyi suda çözünür azot, trikloroasetik asitte çözünür azot ve trinitrobenzensulfonik asitle reaksiyona giren serbest amino gruplarının konsantrasyonları ölçülerek saptanmıştır. Lipoliz düzeyi serbest yağ asitleri konsantrasyonları ölçülerek belirlenmiştir.

Endüstriyel yöntemle üretilen peynirlerde nem miktarı daha yüksek bulunmuştur. Geleneksel yöntem kullanılarak üretilen peynirlerde, endüstriyel yöntemle üretilen peynirlere göre suda çözünür azot düzeyleri daha yüksek ve trikloroasetik asitte çözünür azot düzeyleri daha düşük bulunmuştur. Peynirlerdeki serbest amino gruplarının konsantrasyonları arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Serbest yağ asitlerinin konsantrasyonları geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde daha yüksek bulunmuştur.

PROTEOLYSIS AND LIPOLYSIS IN WHITE CHEESES MANUFACTURED BY TWO DIFFERENT PRODUCTION METHODS

SUMMARY

Texture and flavor in cheese are formed by complex biochemical reactions. Most important biochemical reactions in cheese during ripening period are proteolysis and lipolysis. Proteolysis, in addition to softening of cheese texture, contributes to flavor of cheese directly by producing of amino acids and peptides and indirectly by producing amino acid precursors for the formation of flavor compounds. Lipolysis directly contributes to flavor by releasing free fatty acids from triglycerides.

White cheese is the most commonly produced and consumed cheese in our country. In our country, there are two types of White cheese produced called classic and cultured. Classic White cheese is produced from raw or mildly heat-treated milk without starter culture according to the traditional method. Cultured White cheese is produced from milk heated at a high temperature by addition of starter culture according to a method that can be named industrial. In this study, effect of production method on composition, proteolysis and lipolysis in White cheese was investigated. Cheeses are produced by using the traditional method where a heat treatment at 65°C for 5 min is applied to milk and the industrial method where a heat treatment at 75°C for 5 min was applied and then mesophilic starter culture was added to milk. In addition, CaCl₂ is added and a brine at higher concentration was used in salting. Produced cheeses were stored at 4°C for 90 days and composition, levels of proteolysis and lipolysis at monthly intervals were measured. Proteolysis level was determined by measurements of water soluble nitrogen, trichloroacetic acid soluble nitrogen and trinitrobenzenesulfonic acid reactive free amino groups. Level of lipolysis was determined by measurements of concentrations of free fatty acids.

Moisture level was found higher in the cheeses produced by using the industrial method. In the cheeses produced by the traditional method, water soluble nitrogen levels were higher and trichloroacetic acid soluble nitrogen levels were lower compared to those in the cheeses produced with the industrial method. Levels of free amino groups were not significantly different in the cheeses. Concentrations of free fatty acids were higher in the cheeses produced with the traditional method.

1. GİRİŞ

Türkiye’de çeşitli geleneksel peynirler arasında en yaygın olarak üretilen ve tüketilen peynir çeşidi Beyaz peynirdir. Beyaz peynir inek veya koyun sütünden veya bunların karışımından üretilmektedir. Ülkemizde “klasik” ve “kültürlü” olarak tabir edilen iki farklı Beyaz peynir üretilmektedir. Klasik Beyaz peynir çiğ süt veya düşük sıcaklıkta ısıtıl işlem uygulanmış süttten starter kültür kullanılmadan geleneksel yöntemle göre üretilen peynirdir. Kültürlü Beyaz peynir ise yüksek sıcaklıkta ısıtıl işlem uygulanmış süttten starter kültür kullanılarak endüstriyel yöntem olarak adlandırılabilir bir yöntemle üretilen peynirdir. Geleneksel yöntem daha çok küçük işletmeler tarafından kullanılırken endüstriyel yöntem daha gelişmiş büyük işletmeler tarafından kullanılmaktadır. Ancak bazı büyük işletmeler kültürlü yanında klasik Beyaz peynir de üretmektedirler.

Beyaz peynir üretimi 1998 yılı DPT verilerine göre, ülkemizde üretilen peynirlerin %42’sini oluşturmaktadır. Türkiye’de süt ve süt ürünlerinin dış ticareti fazla gelişmemiş olmasına rağmen ihracatı en çok yapılan süt ürünü peynir çeşitleri olarak görülmektedir. Ayrıca ülkemizde Beyaz peynir tüketimi artmakta olup 1995 yılında 168 bin ton iken 1998 yılında 195 bin tona yükselmiştir. Ülkemizde piyasada çeşitli kalitelerde Beyaz peynir bulmak mümkündür. Ancak peynir üreten işletmelerde kullanılan çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesindeki farklılık, uygulanan üretim tekniklerindeki farklılıklar ve kullanılan üretim ekipmanlarının standart olmayışı Beyaz peynirlerde kalite çeşitliliğine neden olmaktadır (DPT, 2001).

Peynir teknolojisinde, olgunlaşma aşaması üretimin en önemli aşamalarından biridir. Olgunlaşma, peynirlerin çeşidine özgü tat, aroma, renk, kıvam ve görünüm gibi özellikleri kazanabilmesi için, belirli şartlar ve sürelerde geçirdiği değişikliklerin toplamı olarak tanımlanabilir. Olgunlaşma sırasında her peynir çeşidi, belirli koşullar ve sürelerde geçirdiği kompleks biyokimyasal değişikliklerinin etkisiyle kendine özgü duysal ve fiziksel özellikleri kazanır (Pahlaka ve Antila, 1987). Olgunlaşan

peynirlerde hoşa giden lezzet gelişimi için, peynir matriksinde meydana gelen çeşitli reaksiyonlar arasında hassas bir dengenin olması gereklidir (Fox ve McSweeney, 1998). Peynirde olgunlaşma sırasında glikoliz, proteoliz ve lipoliz olmak üzere 3 ana biyokimyasal reaksiyon meydana gelmektedir. Proteoliz peynir yapısının gelişmesine etkide bulunurken, aynı zamanda tat ve koku maddelerinin oluştuğu reaksiyonlara n maddeler sağlayarak ve direk etkide bulunan amino asitler üreterek lezzet gelişimine de katkıda bulunur. Lipoliz ise trigliseridleri parçalayıp yağ asitlerini açığa çıkararak tada direk etkide bulunur. Peynirde tat ve kokunun gelişmesi, bu reaksiyonlar sonucunda oluşan maddelere bağlıdır. Kullanılan retim metoduna ve süt çeşitine göre bir çok uçucu bileşik aroma üzerine etkilidir (Koçak ve diğ., 1997).

Literatürde Beyaz peynirde olgunlaşma sırasında tat ve aroma gelişimi üzerine yapılan çalışmalar yetersizdir. Bu çalışmada geleneksel ve endüstriyel olmak üzere iki farklı üretim metodu ile üretilen Beyaz peynirlerde olgunlaşma sürecinde proteoliz ve lipoliz araştırılmıştır. İki farklı üretim metodunun ve olgunlaşma süresinin proteoliz ve lipoliz üzerine etkileri incelenmiş ve bu reaksiyonlarda rol oynayan etmenler tartışılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Beyaz Peynir Tanımı ve Özellikleri

Türk Standartları Enstitüsü'ne göre, “Beyaz peynir, çiğ süt veya pastörize süt standardına uygun sütlerin imalat tekniğine göre işlenmesi ve olgunlaştırılması sonucu elde edilen kendine has şekil, renk, koku, tat ve aroması olan bir peynirdir” (TSE, 1989). Beyaz peynir TS 591 Beyaz Peynir Standardı'na göre kuru maddede yağ oranına göre 4 sınıfa ayrılmıştır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Beyaz peynirin ürün özellikleri (TSE, 1989).

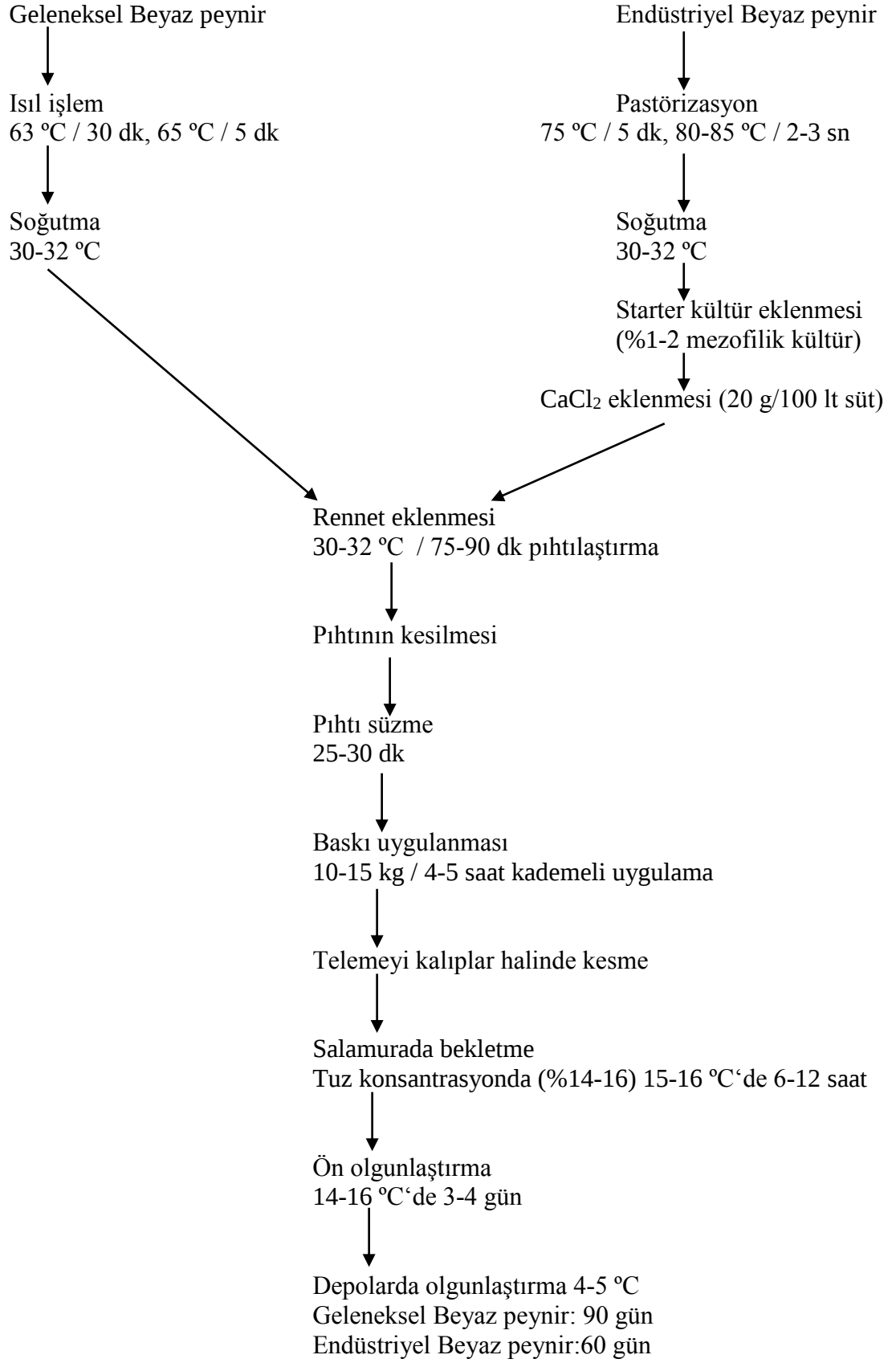
Titrasyon asitliği (laktik asit cinsinden)	kütlece en çok %3 olmalıdır.
Rutubet miktarı	kütlece en çok %60
Tuz miktarı	kütlece en çok %10
Katı maddede süt yağı miktarı	kütlece en çok %45
<i>E.coli</i>	bulunmamalıdır.
Patojen <i>Staphylococcus aureus</i>	bulunmamalıdır.
Koliform bakteri	1 g / 100 adetden çok bulunmamalıdır.
Maya ve küf	1 g / 100 adetden çok bulunmamalıdır.
Yağ Özellikleri	Tam yağlı peynir: %45 kuru maddede yağ içeren Orta yağlı peynir: %30-44 kuru maddede yağ içeren Az yağlı peynir: %20-29 kuru maddede yağ içeren Yağsız peynir: <%20 kuru maddede yağ içeren

2. 2. Beyaz Peynir Üretimi

Beyaz peynir ülkemizde, Bulgaristan'da, Orta Asya ülkelerinde ve Teleme adıyla Yunanistan'da üretilmektedir. Bunun yanında kuru tuzlanan benzer bir peynir türü olan Feta peyniri de Yunanistan'da üretilmektedir. Feta peyniri üretiminde diğer Beyaz peynir benzeri peynirlerin üretiminden farklı olarak kuru tuzlama yapılmakta ve peynirler birkaç gün bekletildikten sonra paketlenmektedir (Abd El-Salam ve diğ., 1993). Yunanistan Feta peynirinde kökeninin isim hakkının korunması konusunda 1996 yılında başvuruda bulunarak, Feta peynirinin isim hakkını almıştır (Anonim, 1999).

Beyaz peynir koyun, keçi, inek veya bunların karışımından üretilmektedir. Ülkemizde "klasik" ve "kültürlü" olarak tabir edilen iki farklı Beyaz peynir bulunmaktadır. Klasik Beyaz peynir çiğ süt veya düşük sıcaklıkta ısıtılma işlemi (63°C / 30 dk veya 65°C / 5 dk) uygulanmış süttten starter kültür kullanılmadan geleneksel yöntemle üretilen peynirdir. Kültürlü Beyaz peynir ise yüksek sıcaklıkta ısıtılma işlemi (75°C / 5 dk veya $80-85^{\circ}\text{C}$ / 2-3 s) uygulanmış süttten starter kültür kullanılarak endüstriyel yöntem olarak adlandırılabilen bir yöntemle üretilen peynirdir. Geleneksel yöntem daha çok küçük işletmeler tarafından kullanılırken endüstriyel yöntem daha gelişmiş büyük işletmeler tarafından kullanılmaktadır. Ancak bazı büyük işletmeler kültürlü yanında klasik Beyaz peynir de üretmektedirler.

Endüstriyel üretim yönteminde, yüksek sıcaklıkta ısıtılma işlemi uygulanmış süttün pıhtılaşma özelliklerini iyileştirmek amacıyla %0,02-0,06 oranında CaCl_2 eklenmektedir (Hayaloğlu, 2002). Ayrıca geleneksel yöntemden farklı olarak mezofilik ve/veya termofilik kültür eklenmekte ve salamurada daha yüksek tuz konsantrasyonu kullanılmaktadır (Şekil 2.1). TS 591 Beyaz Peynir Standardı'na göre çiğ süttten üretilen Beyaz peynir 90 ve pastörize süttten kültür kullanılarak üretilenler ise 60 gün olgunlaşma süresini tamamladıktan sonra satışa sunulmaktadır (TSE, 1989).



Şekil 2.1. Beyaz peynir üretimi (Hayaloğlu ve diğ., 2002)

2.3. Peynirde Olgunlaşma

Olgunlaşma, peynirin çeşidine özgü tat, aroma, renk, kıvam ve görünüm gibi özellikleri kazanabilmesi için, belirli şartlar ve sürelerde geçirdiği değişikliklerin toplamı olarak tanımlanabilir. Olgunlaşma sırasında her peynir çeşidi, belirli koşullar ve sürelerde geçirdiği kompleks biyokimyasal değişikliklerin etkisiyle kendine özgü duyuşsal ve fiziksel özellikleri kazanır (Pahlaka ve Antila, 1987). Olgunlaşan peynirlerde hoşça giden lezzet gelişimi için, peynir matriksinde meydana gelen çeşitli reaksiyonlar arasında hassas bir dengenin olması zorunludur (Fox ve McSweeney, 1998). Peynirde olgunlaşma sırasında glikoliz, proteoliz ve lipoliz olmak üzere 3 ana biyokimyasal reaksiyon meydana gelmektedir. Peynirde tat ve kokunun gelişmesi, bu reaksiyonlar sonucunda oluşan maddelere bağlıdır.

Olgunlaşmada rol oynayan önemli faktörler şunlardır:

- 1) Peynirle ilgili faktörler: Nem, tuz, tuz/nem oranı, asitlik, sütün doğal enzimleri, pıhtılaştırıcı enzimler, dışardan eklenen enzimler, starter, starter olmayan ve yardımcı mikroorganizmaların enzimleridir.
- 2) Çevresel faktörler: Olgunlaşma odasının sıcaklığı ve bağıl nemidir.

2.3.1. Glikoliz

Süte starter olarak katılan veya sütün doğal mikroflorasında bulunan laktik asit bakterilerinin peynirin olgunlaşmasında önemli rolü vardır. Bu bakteriler laktozu fermente ederek laktik asit oluştururlar. Laktik asit bakterilerinin, sütün rennetle pıhtılaşması, peynir altı suyunun telemeden ayrılması, doku ve lezzet gelişimi, patojenlere karşı ürünün korunması ve ürün dayanımının artırılması üzerine olumlu etkileri mevcuttur (Karakuş, 1994).

2.3.2. Proteoliz

Proteoliz, peynirin olgunlaşması sırasında meydana gelen kompleks biyokimyasal olaydır. Peynirin yapısını yumuşatmasına ek olarak, peynirin tadına direk etkide bulunan amino asitler ve peptidler yoluyla peynirin tadının gelişmesine etkide bulunur (Katsiari ve diğ., 2000a). Proteoliz sütte başlar ve peynirin tüketimine kadar devam eder. Taze peynirlerde proteoliz olgunlaştırılarak tüketilen peynirlere göre

daha sınırlıdır (Koçak ve diğ., 1997). Proteoliz, protein ağının kırılımı, serbest karboksil ve amino gruplarının su bağlaması ile su aktivitesinde düşüş ve pH'nın artması yoluyla peynirin yapısında değişikliklere sebep olur (McSweeney ve diğ., 2001).

Proteoliz üzerinde, öncelikle peynirin mikrobiyal yapısı, pH'sı, nem ve tuz içeriği, olgunlaştırma koşulları, eklenen diğer katkı maddeleri ve sütü pıhtılaştırmak amacıyla kullanılan enzimin saflık derecesi etkilidir.

Peynirde proteolitik etkenler 5 kaynaktan gelmektedir;

1. Koagulant: Peynir yapımında rennetin en önemli amacı pıhtılaşmayı sağlamaktır. Mikrobiyal kaynaklı rennetin proteolitik aktivitesi, kimozen ve bovin pepsin kaynaklı rennetlerden daha güçlüdür. Rennetin peynirin olgunlaşması üzerine etkisi sıcaklık ve asitliğe bağlı olarak değişir (Pahkala ve Antila, 1987). Süte eklenen koagulantın büyük kısmı peynir altı suyuyla ayrılır. Bu aktivitenin sadece %15'i üretimden sonra telemede kalır. Koagulant çeşidi, karışımdaki farklı enzim oranları, uygulanan sıcaklık, peynir çeşidi ve peynirdeki nem düzeyi gibi faktörler, telemede kalan rennet aktivitesini etkiler. (McSweeney ve diğ., 2001).

2. Süt kaynaklı enzimler: Plazmin, somatik hücre proteinazları ve sütün doğal florasından kaynaklanan enzimlerdir.

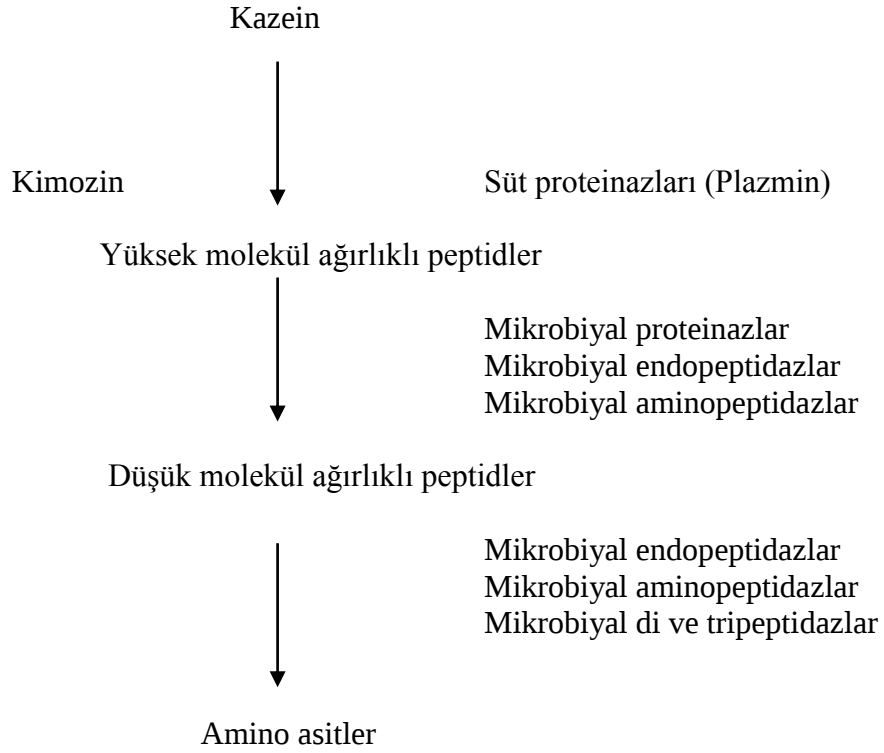
3. Starter ve yardımcı kültürler: Peynir yapımında kültürün en önemli işlevi asit oluşumunu sağlamaktır ancak proteolitik aktiviteleriyle de proteolize katkıda bulunurlar. Peynir yapımında starter olarak kullanılan *Lactococcus*, *Lactobacillus* ve *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* bakterilerinin geniş proteinaz / peptidaz sistemleri vardır. Starter bakteriler gelişmek üzere ihtiyaçlarını karşılamak için proteinleri amino asitlere parçalayacak kompleks enzim sistemlerine sahiptirler. Bu enzimler hücrenin parçalanmasından sonra da proteolizde rol almaktadırlar. Laktobasillerin proteolitik aktivitesi kazein ve serum proteini üzerine odaklanmıştır. Kazein üzerine aktivitesi için en uygun ortam nötr pH ortamıdır. Suşa göre proteinaz ve peptidaz aktiviteleri değişmektedir. Bazı suşlar yüksek proteolitik aktivite ve düşük amino peptidaz aktivitesi gösterirken, tam tersi bir durumda gözlenebilir. Hatta bazı suşlar yüksek endopeptidaz aktivite göstermektedirler (Pahkala ve Antila, 1987).

4. Starter olmayan bakterileri: Tipik starter olmayan bakteriler *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus* ve *Enterococcus* türleridir. Starter olmayan bakterilerin

peynirde olgunlaşma üzerine önemli etkileri olduğu bildirilmiştir (Steele ve Ünlü, 1992).

Süte rennet katılmasından kesilebilir pıhtı oluşumuna kadar geçen sürede proteoliz, agregasyon ve jelleşme aşamaları gerçekleşir. Proteoliz aşamasında, rennetteki asit proteinazlar (başlıca kimozen ve pepsin) κ -kazeini 105-106 (Phe-Met) bağından parçalayarak para- κ -kazein ve glikomakropeptid parçalarlar. para-K-Kazein oldukça hidrofobiktir ve miseller üzerinde tutunur. Glikomakropeptid ise hidrofiliktir ve misellerden ayrılarak seruma geçmektedir. Kazein misellerinin stabilitesi κ -kazeinin yüzeyindeki 10-20 mV'luk bir zeta potansiyeli sağlayan negatif yükle ilişkilidir. κ -Kazeinin glikomakropeptid parçası, yüzey yükünün taşınmasında önemli bir role sahiptir. Bu nedenle glikomakropeptidin seruma geçmesi, zeta potansiyelini (yaklaşık %40) azalttığı gibi, misellerin yüzeyinde daha fazla hidrofobik alan oluşmasına neden olur. Böylece miseller arasındaki sterik ve elektrostatik itme gücü azalarak agregasyon gerçekleşir (Gökalp ve diğ., 2000).

Peynirde proteoliz iki aşamada incelenebilir. Birincil proteolizde kalıntı pıhtılaştırıcı enzimlerin ve daha az etkili olan plazmin ve katepsin-D ve diğer somatik hücre proteinazları tarafından kazein fraksiyonlarının hidrolizi sonucu büyük ve orta büyüklükteki peptidler oluşur. İkincil proteolizde ise, birincil proteoliz sonucunda oluşan büyük ve orta büyüklükteki peptidler, pıhtılaştırıcı enzimler ve starter ve starter olmayan floranın proteinaz enzimlerinin etkisiyle parçalanırlar. Meydana gelen düşük molekül ağırlıklı peptidler ise bakteriyel peptidazların faaliyetleri sonucu amino asitlere dönüşür (Şekil 2.2) (Akın, 2002). *Lactococcus* türlerinin hücre zarına bağlı proteinazları, α_{s1} -kazeinden üretilen veya plazmin tarafından β -kazeinden üretilen büyük peptidlerin hidrolizi ile katılırlar. Parçalanan hücrelerden açığa çıkan hücre içi peptidazlar ise küçük peptidlerin degradasyonundan ve serbest amino asit oluşumundan sorumludurlar (McSweeney ve diğ., 2001).



Şekil 2.2. Kazeinin Amino asitlere hidrolizi (Steele ve Ünlü, 1992).

Amino asit katabolizması, peynirde tat oluşumuna katılan fenoller, indoller, alkoller, amonyak, aminler, aldehitler gibi pek çok bileşik oluşturur. Ancak her laktik asit bakteri türünün bu biyokimyasal olaylardaki rolü henüz anlaşılmış değildir. Bu karışık reaksiyonlarda üç anlaşılır adım vardır. Birincisi, dekarboksilasyon, deaminasyon, transaminasyon, desülfürasyon ve yan zincirlerin hidrolizi; ikincisi, başlıca aminler ve α -ketoasitler olmak üzere son bileşiklerin dönüşümü; üçüncüsü ise aldehitlerin alkollere indirgenmesi veya karboksilik asitlere oksidasyonunun meydana gelmesidir. Kükürt içeren serbest amino asitler metantol ve birkaç sülfür türevinin oluşumuna sebep olan reaksiyonlara katılabilirler. Serbest amino asit metabolizmasından meydana gelen uçucu bileşikler olgunlaşmış peynirin karakteristik duyuşal özelliklerine katkıda bulunurlar (Malcata ve diğ., 2002).

Proteoliz ürünleri, tat ve aroma üzerine olumlu etkide bulundukları gibi tat bozukluklarına da sebep olabilirler. Özellikle bazı peptidler, peynirde acı ve keskin tat bozukluklarının kaynağı olarak belirlenmişlerdir. Fakat bunların genellikle hidrofobik amino asitleri yüksek oranda içerdikleri saptanmıştır. Ancak eğer hidrofobik amino asitler fazla ise istenmeyen tat oluşabilir. (Uraz ve Şimşek, 1998; Güven ve Karaca, 2001). Bazı starter kültürlerde bulunan bakterilerin proteinazlar,

özellikle β -kazein üzerine etkili olarak, peynirde acı tadın oluşumuna sebep olan hidrofobik peptidleri oluştururlar (Mendia ve diğ., 2000). Ancak sert veya yarı sert peynirlerde acı lezzet oluşumuna, bazı *Lactococcus* suşlarının türlerinin hücre duvarına bağlı proteinaz aktivitelerinin yol açtığı bildirilmiştir. Starter suşlarının sahip olduğu proteinaz enziminin tipine bağlı olarak acı peptidler oluştuğunu ve bazı *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* suşlarının bu tür peptid oluşturma yeteneğinin bulunmadığı bildirilmiştir. Ayrıca acı peptidleri parçalayarak acı olmayan bileşiklere dönüştüren peptidaz enzimleri tüm *Lactococcus* suşları türlerinde vardır. Bu yüzden, peynirlerde acılaşma kusurunun ortaya çıkması, bu iki farklı enzimin aktivite düzeyine bağlıdır. Başlıca azot kaynağı kazein olan sütte bu bakterilerin gelişme ve buna bağlı olarak asit oluşturma hızları açısından da starter suşlarının proteolitik aktiviteleri önem taşımaktadır. *Lactococcus* türlerinin hücre duvarına bağlı hücre dışına salgıladıkları proteinaz ve peptidaz enzimlerine sahip oldukları bilinmektedir. Bu enzimler sayesinde kazeinin degradasyonu ile oluşan peptidler hücre içine alınabilmekte ve daha sonra hücre içi peptidazların etkisiyle serbest amino asitler parçalanarak hücre materyalinin sentezlenmesinde kullanılmaktadırlar (Karakuş, 1994).

Proteoliz Ölçüm Metotları

Peynirde proteoliz düzeyini belirlemek amacıyla olgunlaşma sırasında oluşan kazein fraksiyonları, peptidler ve amino asitler çeşitli metotlarla ayrılarak miktarları ölçülür.

Bazı araştırmacılar tarafından proteoliz 2 kısma ayrılmaktadır: 1. Poliakrilamid jel elektroforez yöntemi ile tespit edilen çeşitli kazein fraksiyonlarının oranlarında ve peptid bileşimlerindeki değişiklikler birincil proteolizi, 2. Suda çözünen fraksiyonların ürünleri ikincil proteolizi belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (Barlow ve diğ., 1986)

Peynirdeki Azot Bileşenlerini Ayırma ve Çökeltme Metotları

Peynirdeki protein ve peptidler büyüklük, çözünürlük ve yapı açısından farklılık göstermektedirler, bu yüzden analizden önce azot fraksiyonlarını ayırmak önemlidir. Peynirdeki azot fraksiyonları, farklı çökteltici kimyasallar kullanılarak farklı çözünür fraksiyonlara ayrılabilirler (Tablo 2.2) (Christensen ve diğ., 1991). Ayrıca amino asit

analizinden önce peptidlerden kaynaklanacak etkiyi azaltmak için örnekteki protein ve peptidleri ayırmak gerekir (McSweeney ve Fox, 1997).

Tablo 2.2. Farklı çöktirme tekniği kullanılarak elde edilen çözünür azot fraksiyonlarının kompozisyonu (Christensen ve diğ., 1991).

Ayırma ajanı	Çözünür Fraksiyonlardaki Azot Bileşenleri
• Su • Asit (pH 4,6) • CaCl_2 • NaCl	Proteinler, Peptidler, Aminoasitler
• Kloroform - Metanol	Hidrofobik peptidler, Aminoasitler
• Trikloroasetik asit (TCA) • Etanol • Sülfosalisik Asit (SSA)	Peptidler, Amino asitler
• Fosfotungustik Asit (PTA)	Çok küçük peptidler, Amino asitler

Su: Su amino asit ve peptidlerin izolasyonu için kullanılan öncelikli çözücüdür. Suda çözünür azot düzeyi peynirde olgunlaşma indeksi olarak kullanılır (McSweeney ve Fox, 1997). Su, CaCl_2 ve asit (pH 4,6) ile çöktirme teknikleri, orta ve düşük molekül ağırlıklı peptidleri ve amino asitleri büyük peptidlerden ayırır (Christensen ve diğ., 1991).

Birçok peynirde, suda çözünür azot üretiminden sorumlu başlıca proteolitik enzimler koagulant (kimozin) ve daha düşük derecede olmak üzere plazmindir (McSweeney ve Fox, 1997). Starter proteinazları ve peptidazları kimozin ve plazmin tarafından serbest bırakılan pek çok peptid üzerinde aktiftirler. Ancak parçalanmamış kazeinlerin ve büyük peptidlerin, suda çözünür peptidlere hidrolizinde az rol oynamaktadırlar (McSweeney ve Fox, 1997).

Su, olgunlaşma sırasında pH'nın düşük oranda değiştiği olgunlaştırılmış peynir çeşitlerinde, uygun çözücüdür. Ancak, küf ve bakteri ile yüzey-olgunlaştırılmış peynir çeşitleri olgunlaşma sırasında pH artışı ile karakterize edilirler. Bu yüzden azotun ayrıştırılabilmesi pH ile değişir. Bu nedenle bu tip peynirlerde başka bir metot kullanılmalıdır (McSweeney ve Fox, 1997).

Asit (pH 4,6): asit kullanılarak peynir çözeltisi pH 4,6'ya ayarlandıktan sonra elde edilen pH 4,6-çözünür azot düzeyi de proteoliz indeksi olarak kullanılır. Suda çözünür azot gibi pH 4,6-çözünür azot fraksiyonu da başlıca rennet tarafından üretilen peptidleri ve aminoasitleri içerir ve olgunlaşma sırasında artar (McSweeney ve Fox, 1997). Süt proteinazları ve plazmin aktivitesinden kaynaklanan proteoz peptonlar da pH 4,6'da çözünür ancak bunların pH 4,6-çözünür azot değerine katılımı düşüktür. Plazmin aktivitesine bağlı olarak meydana gelen γ -kazein de pH 4,6'da çözünür değildir (McSweeney ve Fox, 1997). Kuchroo ve Fox (1982a)'a göre bu metot, su ile ekstraksiyona kıyasla düşük değerler verir. Metodun uygulanması zor olmasına karşın standardize etmek daha kolay olabilir.

CaCl₂: Bazı araştırmacılar tarafından, kazein kökenli peptidler için CaCl₂ ile çökeltme metodu kullanılmıştır (McSweeney ve Fox, 1997). Peynirin yaşı ile CaCl₂'de çözünür azotta artış miktarı bağlantılıdır (Kuchroo ve Fox, 1982b).

Kuchroo ve Fox (1982b), suda çözünür azotun %42'sinin 0,1 mol/L CaCl₂'de çözündüğünü bulmuşlardır. CaCl₂'de çözünür fraksiyon jel elektroforezle analiz edildiğinde fraksiyonun peynir altı suyu proteinleri, peptidleri ve amino asitleri içerdiği görülmüştür (Christensen ve diğ., 1991). CaCl₂'de çözünmeyen fraksiyonlar, suda çözünmeyen fraksiyonlara benzer olarak, kazeinleri ve büyük peptidleri içerirler (Kuchroo ve Fox, 1982b).

Etanol: Proteinlerin ve peptidlerin etanol ile ayrıştırılması peynirde peptidlerin ayrıştırılmasında yaygınlıkla kullanılır. Etanol %30-80 konsantrasyonunda kullanılabilir ama genellikle %70 konsantrasyonu kullanılmaktadır (McSweeney ve Fox, 1997). Çözünür fraksiyon düşük molekül ağırlıklı peptidleri ve amino asitleri içermektedir. Çözünür olmayan fraksiyonlar, proteinler, yüksek ve orta molekül ağırlıklı proteinleri içerir (Christensen ve diğ., 1991).

Trikloroasetik asit (TCA): Trikloroasetik asit'in %2 veya %25 arası konsantrasyonları istenilen fraksiyon düzeyine (molekül ağırlığı) aralığına göre kullanılmaktadır. Örneğin, 12% TCA-çözünür fraksiyonu küçük peptidleri ve amino asitleri içermektedir (McSweeney ve Fox, 1997). TCA (%12)-çözünür azotun büyük bir kısmı starter proteinaz ve peptidazlarının aktiviteleri sonucu oluşur ancak rennet de az da olsa katkıda bulunur (Christensen ve diğ., 1996; McSweeney ve Fox, 1997).

Bazı araştırmacılar tarafından Parmegiano-Reggiano peynirinden izole edilen ve tanımlanan 12% TCA çözümler peptidlerin çoğunluğunun fosfopeptidler olduğu bulunmuştur (McSweeney ve Fox, 1997).

Etanolun %70 ve TCA'nın %12 konsantrasyonlarının ekstraksiyon düzeyleri birbirine eşittir ve çözümler fraksiyonları benzer peptidler içerir (McSweeney ve Fox, 1997). Etanolun %70 konsantrasyonu ile ekstraksiyon sonucunda %12 TCA'le ekstraksiyon sonucunda elde edilen fraksiyonda bulunan peptidlere göre daha düşük molekül ağırlıklı peptidler çöker. Etanolun %70 konsantrasyonu ile elde edilen çözümler fraksiyonların %95'i %12 TCA'le ekstraksiyon sonucunda da çözünür. (Christensen ve diğ., 1991).

Trifloroasetik asit: Genellikle peynir ekstraktından bütün peptidler çöktürmek ve peynirdeki serbest amino asitleri tanımlamak için istenir. Çünkü böyle çöktürücüler ile elde edilen çözümler azot, serbest amino asitlerin ham bir ölçümüdür. Eğer örnekte amino asit analizi yapılacaksa örnek, serbest peptidlerden de arındırılmış olmalıdır (McSweeney ve Fox, 1997).

Fosfotungstik asit (PTA): Çok seçici bir protein çöktürücü ajandır. PTA-çözünür azot metodu ile ayrıştırılan serbest amino asitler ve düşük molekül ağırlıklı peptidler Kjeldahl ile ölçülür (Bouton ve Grappin, 1994; Sousa ve diğ., 2001). En yaygın kullanılan konsantrasyonu %5'dir. PTA-çözünür azot, peynirde serbest amino asitlerin indeksi olarak kullanılmaktadır. Sadece serbest amino asitler (lisin ve arsinin hariç) ve 600 Da'dan küçük peptidler %5 PTA'da çözünür. PTA'da çözünmeyen fraksiyon ise proteinleri ve 600 dalton'dan büyük moleküler ağırlıklı peptidler içerir (Christensen ve diğ., 1991).

PTA'da çözünür azot metoduna göre ölçülen azot miktarı Trinitrobenzensulfonik asit (TNBS) metoduna göre ölçülenden 1,35 kat fazladır. Bu oran, peptidlerin varlığından kaynaklanabilmektedir. Çünkü TNBS metodu sadece serbest amino gruplarını ölçerken, Kjeldahl ile devam eden PTA'da çözünür azot metodunda toplam çözünür azotu ölçer (Bouton ve Grappin, 1994).

5-sülfosalisik asit (SSA): Seçici bir protein çöktürücü ajandır. Amino asit analizi veya amino asit azot indeksi için hazırlanan peynir ekstraktı için %3 konsantrasyonda kullanılır (McSweeney ve Fox, 1997). Ancak, Kuchroo ve Fox (1982a), %2,5

SSA'in suda çözünür azotun sadece %10'unu çökelttiğini bulmuşlardır. SSA ile elde edilen fraksiyonlardaki suda çözünür peptidler karakterize edilememişlerdir.

Peynirdeki Peptid Bağlarının Parçalanmasını Direk Ölçen Metotlar

Peynirde çeşitli ayırma teknikleriyle elde edilen peptid ve aminoasitler çeşitli metotlar kullanılarak ölçülebilirler (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Peynirdeki proteolizin ölçüm metotları (Ardö ve Meisel, 1991)

Metot	Ölçülen Bileşen
• Kjeldahl	Azot
• 280 nm absorbans • Hull, Folin Fenol Reaksiyonu • Lowry	Triptofan ve Tirozin
• Formal Titrasyon • Titrasyon • TNBS, absorbans • Ninhidrin, absorbans • OPA, absorbans • Fluorasamin, florimetry	Serbest amino grupları

Triptofan ve Tirozin İçeriğinin Saptanması

Peynirin protein, peptid ve amino asit içeriği, aromatik amino asitler olan triptofan ve tirozin içeriğinin hesaplanması ile saptanabilir. Bu amino asitlerin absorbansı 280 nm'da saptanabilir (Ardö ve Meisel, 1991).

Hull Metodu: Proteoliz sırasında serbest kalan, asitte çözünür tirozin ve triptofanı ölçen kolorimetrik metottur (Kwan ve Skura, 1983). Hull metodu duyarlı değildir ve çok aşama içerdiğinden fazla sayıda örnek analizi için uygun değildir (Sousa ve diğ., 2001).

Folin Fenol Metodu: Folin bileşiği aromatik amino asitlerle reaksiyona girer (Ardö ve Meisel, 1991).

Lowry Metodu: Folin metodunun değiştirilmiş bir şeklidir. Proteolizi tirozin konsantrasyonuna göre ölçmektedir (Kwan ve Skura, 1983). Kısmen, tirozin ve triptofanın Folin-Ciocalteau kimyasalı ile reaksiyonuna dayanmaktadır. Ancak Lowry metodu, bakırın peptid bağları ile alkali çözelti içinde reaksiyonunu içermesi dolayısıyla daha karışıktır (Biuret reaksiyonu). Bu metot, Cheddar peynirinin çeşitli HPLC fraksiyonları içindeki protein düzeyini tayin etmek için kullanılmıştır (Sousa ve diğ., 2001). Peynir fraksiyonlarındaki protein ve/veya peptidlerin rutin analizi için uygun bir metottur (McSweeney ve Fox, 1997).

UV Spektrofotometrik Metodu: Aromatik fonksiyonel grup içeren tirozin ve triptofanın absorbansını ölçerek proteoliz tespit edilir. UV metodu, suda çözünür peptidlerin düzeyini ölçmek için sıklıkla kullanılmaz. Triptofan ve tirozin konsantrasyonu, β -kazein degradasyonunun indeksi olarak kullanılır. Peynirde olgunlaşmanın başlangıcında α_{s1} -kazein hidrolize olduğunda, N-terminal fraksiyonlar, tirozin ve triptofan içermezler UV radyasyon absorbe etmezler. Ancak olgunlaşmanın ilerleyen aşamalarında β -kazeinin hidroliziyle tirozin içeren peptidler serbest kalır. Ancak bu peptidler triptofan içermezler. Bu yüzden, β -kazeinin hidrolizi, UV absorbansı ile izlenebilir. Ancak UV metodu, β -kazein degradasyonunu izlemek için genellikle kullanılmaz (Sousa ve diğ., 2001).

Boya Bağlama (“Dye-Binding”) Metodu: Proteinlerin pozitif yüklü amino asit kalıntılarının asidik bir boyayla yaklaşık pH 3’de reaksiyona girerek, çözünür olmayan kompleksler oluşturmaya bağlıdır. Çözeltideki proteinlerin ve/veya peptidlerin konsantrasyonu ile absorbans ters orantılıdır (Sousa ve diğ., 2001).

Bradford Metodu: Biyokimyada çok kullanılmasına rağmen, peynirde pek kullanılmaz (Sousa ve diğ., 2001).

Serbest Amino Gruplarının Ölçüm Metotları

Formal Titrasyon Teknikleri: Sütte amino gruplarının miktarını ölçerek proteolizin düzeyini tespit etmek için kullanılan basit bir metottur. Peynirin tampon kapasitesi, amonyak, amino, imino ve karboksil gruplarının oluşumuna bağlı olarak olgunlaşma süresinde artar (McSweeney ve Fox, 1997). Bu metotta serbest amino grupları yüksek miktarda formaldehit varlığında alkali pH'ya (pH 8) ulaşana kadar sodyum hidroksit ile titre edilir. Bu metot daha önce sıklıkla kullanılmaktaydı (Ardö ve Meisel, 1991).

Trinitrobenzensulfonik asit (TNBS) Metodu: TNBS, sitokiyometrik olarak birincil aminlerle reaksiyona girebilen, 420 nm'de absorbansa sahip peptid veya proteinlere bağlı kalan kromofor (renk) üreten, bir reaktiftir (McSweeney ve Fox, 1997). TNBS'nin birincil aminlerle reaksiyonu sarı renk oluşturur (Sousa ve diğ., 2001). Reaksiyon alkali pH'da oluşturulur ve pH düşürülerek durdurulur. TNBS, histidin ve prolinin imino gruplarından ve tirozin, serin ve tironin de bulunan hidroksil gruplarından etkilenmez (Bouton ve Grappin, 1994), sadece serbest amino gruplarını etkiler (Sousa ve diğ., 2001; Barlow ve diğ., 1986). TNBS metodu ile çok sayıda örnek kısa sürede analiz edilebilir (Bouton ve Grappin, 1994). TNBS metodunun dezavantajı, kuru tozunun patlayıcı olması ve uzun süreli depolamada yüksek kör değerine sebep olmasıdır (McSweeney ve Fox, 1997).

Bazı araştırmacılar α -amino grupların konsantrasyonu ve 420 nm'deki absorbans değeri arasında doğrusal bir ilişki bulmuşlardır, ancak bu ilişki proteinlerde bulunan lizin konsantrasyonundaki değişikliğe göre de değişmektedir (McSweeney ve Fox, 1997). Hull ve TNBS metotları karşılaştırdığında, TNBS metodunun peynirde proteoliz indeksinin belirlenmesinde daha iyi bir metot olduğu kaydedilmiştir (McSweeney ve Fox, 1997). Polychroniadou (1988) peynirde yapmış olduğu analizlerde, TNBS methodu ile elde edilen değerlerin, Kjeldahl prosedürü ile tayin edilen suda çözünür azot değerleri arasında pozitif bir korelasyon bulunduğunu bildirmiştir.

Ninhidrin Metodu: Olgunlaşma sırasında peynirdeki serbest amino gruplarının ayrışmasını izlemek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Sousa ve diğ., 2001). Metodun prensibi, ninhidrin serbest amino gruplarıyla reaksiyona girdiğinde oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesidir (McSweeney ve Fox, 1997). Ninhidrin,

serbest amino grupları ile reaksiyona girerek mor renk oluşturur. Serbest amino asitler ninhidrin ile türevlendirilerek, kromatografik analizi için ayrılabilirler (Sousa ve diğ., 2001). Ninhidrin amonyakla da reaksiyona girer. Bu yüzden TNBS ile saptanan proteoliz düzeyi, ninhidrin metodu ile saptanan proteoliz düzeyinden düşüktür. Bu farklılık amonyaktan kaynaklanmaktadır. Cd-ninhidrin, Sn-ninhidrin dahil olmak üzere, diğer ninhidrin reaktiflerine kıyasla serbest amino asitlerin amino grupları için peptidlerin veya proteinlerin amino gruplarına göre daha seçici ve daha duyarlıdır (McSweeney ve Fox, 1997).

Floresamin (“Fluorescamine”) Metodu: Florimetrik reaktifler de serbest amino gruplarının tanımlanmasına uygundur. Florimetrik teknikler, kolorimetrik tekniklerden daha duyarlıdır (McSweeney ve Fox, 1997). Floresamin, birincil aminlerle, olgunlaşma sırasında serbest kalan peptidler ve amino asitlerin serbest amino gruplarıyla reaksiyona girer (Kwan ve diğ., 1983; Sousa ve diğ., 2001). Floresamin pH 6,0’da sadece α -amino gruplarla reaksiyona girerken, pH 8,0’da α - ve ϵ -amino gruplarıyla reaksiyona girmektedir. Bu seçicilik düşük pH’da ϵ -amino grupların reaktifliğinin düşmesi ile açıklanmıştır (Sousa ve diğ., 2001). Floresamin genellikle peynirde proteolizi ölçmekten çok, çözeltilerdeki enzim aktivitesini ölçmek için kullanılır. Bu metot, sütte rennetin enzimatik aktivitesini ölçmek için, çeşitli mikrobiyal proteinazların aktivitesini belirlemek ve çeşitli süt proteinlerinin hidrolizinden açığa çıkan TCA-çözünür peptidlerin oluşumunu tayin etmek için kullanılır (McSweeney ve Fox, 1997)

o-Ftaldialdehit (“o-phthaldialdehyde” OPA) Metodu: OPA, indirgen kimyasal içeren alkali ortamda sadece serbest amino asitlerin α -amino grupları ve küçük peptidlerle (MW<6000 Da) reaksiyona girer ve 340 nm’de absorbe eden floresan bir bileşik oluşturur. Florimetrik OPA, spektrofotometrik OPA metodundan daha duyarlı olmasına rağmen spektrofotometrik OPA metodu daha çok kullanılmaktadır. OPA metodu, bozulma mikroorganizmalarının ve starter kültürlerin proteolitik aktivitesini tayin etmek için kullanılmaktadır (Sousa ve diğ., 2001). OPA metodunun, 280 nm’de absorbans ölçümünden daha duyarlı olduğu ve ninhidrin ve TNBS prosedürlerinden daha güvenli olduğu bildirilmiştir (McSweeney ve Fox, 1997).

Peynirde Elektroferez Metodu: Jel ortamında elektroferez yapıldığında sadece proteinlerin ve büyük peptidlerin renklendirme yoluyla görülebilirliği sebebiyle,

kazeinlerin hidroliziyle oluşan başlangıç proteolitik ürünlerinin oluşumunun izlenmesi ile sınırlıdır (McSweeney ve Fox, 1997).

2. 3. 3. Lipoliz

Peynir kalitesinde tat, aroma ve yapı en önemli unsurlar olup, bunların oluşmasında süt yağının etkisi çok önemlidir. Süt yağı protein ağına esneklik kazandırarak peynir yapısı üzerine etkili olurken, tat ve aroma oluşumunda ve algılanmasında da etkili rol oynar. Bu yüzden yağsız süttten yapılan peynirlerde aroma tam olarak gelişmemektedir. Peynirde lipoliz sonucu süt yağındaki trigliseritler parçalanmakta ve serbest yağ asitleri oluşmaktadır. lipoliz sonucu açığa çıkan serbest yağ asitleri tada direkt etkide bulunur. Serbest yağ asitleri Ayrıca substrat olarak çeşitli reaksiyonlarda alkoller, esterler, aldehytler, ketonlar ve laktonlar gibi diğer bileşenlerin üretilmesi için ön bileşenler olmaktadır (Kondyli ve diğ., 2002). Kısa zincirli yağ asitleri (C2-C8) özellikle karakteristik aroma üzerine etkilidir. Ancak kısa zincirli yağ asitlerinin fazla miktarda oluşması peynirde hidrolitik ransiditeye sebep olabilir (Efthymiou, 1967). Olgunlaşma süresi boyunca yağ asitlerinin oluşumu üzerine süt lipazı, starter ve starter olmayan bakterilerin lipazları, yardımcı kültürlerin lipazları, pıhtılaştırıcı enzimlerden kaynaklanan lipazlar ve dışardan eklenen lipazlar etkilidir. Peynirde lipoliz üzerine etki eden faktörler süütün cinsi ve kalitesi, uygulanan ısı işlem, kullanılan laktik asit bakterileri, olgunlaştırma ve depolama sıcaklığı, salamura yoğunluğu, çiğ süt kullanılıyorsa süt lipazı ve rennette bulunan lipazlardır (Koçak ve diğ., 1987; Georgala ve diğ., 1999).

Peynirde lipoliz üç aşamada meydana gelebilmektedir (Gaborit ve diğ., 2001):

1. Başlangıç süt lipolizi (kendinden lipoliz),
2. Depolama, teknik operasyon ve koagulasyon ile hızlandırılan lipoliz,
3. Olgunlaştırma kültürleri ile oluşan mikrobiyal lipoliz.

Georgala ve diğ. (1999), olgunlaşma sırasında meydana gelen serbest yağ asidinin sadece miktarlarının değil, birbirlerine olan oranlarının da peynirin aroması üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir. Tüm serbest yağ asitleri lipolizden kaynaklanmamaktadır. Bakteriyel fermentasyon sırasında iki ve üç karbonlu yağ asitleri laktozun, ikincil ürünlerin ve amino asitlerin katabolizması sonucu meydana gelmektedirler.

Süt yağının süt lipazı tarafından hidrolizi, yağ soğutulup ısıtıldıktan sonra oluştu ise ‘kendiliğinden’ lipoliz, karıştırma işleminden sonra oluştuysa ‘hızlandırılmış’ lipoliz olarak adlandırılmaktadır. Bu işlemler yapılmazsa çiğ sütte lipaz aktivitesi düşüktür. Aktivasyon mekanizması tam olarak anlaşılamamaktadır, ancak süt yağının duyarlılığı bir şekilde değiştirilerek, lipaz aktivitesine daha açık hale gelmektedir. Ancak bazı araştırmacılar, ‘hızlandırılmış’ ve ‘kendiliğinden’ lipolizde farklı süt lipazlarının aktivite gösterdiğini iddia etmişlerdir. Yapılan son çalışmalarda ise sadece bir süt enzimi bu iki aktiviteden sorumlu tutulmuştur. Bu yüzden bu iki enzimatik aktivite etkisi üzerine enzimden çok substratın etkili olduğu düşünülmektedir (Te Whaiti ve Fryer, 1976).

Peynirde bulunan lipazlar, laktik asit bakterileri tarafından bakteriyel lipoliz ve pregastrik lipaz yoluyla serbest bırakılan hücre içi lipazlardır. Genellikle lipolitik enzimler trigliseritlerin ve digliseritlerin dış ester bağları için spesifikler (sn-1 ve sn-3 pozisyonu). Diğer küçük ve orta büyüklükteki yağ asitleri gibi bütanoik asitte sn-3 pozisyonu etrafına yerleşmişlerdir ve tercihen lipolitik enzimler tarafından hidrolize olmaktadır. Sütteki trigliseritlerin %1-2 oranında yağ asitlerine hidrolizi süte ransid tat vermektedir. Bu durum lipoprotein lipazın yaklaşık %90’ı kazein misellerinin içindeyse ve yağ molekülleri lipoprotein membranının (MFGM) içindeyse olmaz. Lipoprotein lipaz yağ asitleri için özel değildir, ancak mono, di ve trigliseritlerin sn-1 ve sn-3 pozisyonu için özeldir (Collins ve diğ., 2004). Bu yüzden kısa ve orta zincirli yağ asitleri tercihen lipoprotein lipaz tarafından serbest bırakılırlar. Lipoprotein lipaz çiğ sütte pastörize süte kıyasla daha önemlidir. Lipoprotein lipaz “Yüksek Sıcaklık Kısa Süre” (72 °C, 15 sn) uygulaması ile büyük oranda aktifliğini kaybeder (Deeth ve Fitzgerald, 1983). Ancak bazı pastörize sütlerde etkiye sahiptir, 78 °C’de 10 sn uygulaması etkisini tamamen kaybetmesine sebep olur. Pastörizasyonla 73-95% lipoprotein lipaz aktivitesi kaybolur. Laktik asit bakterileri, serbest yağ asitlerinin esterlerini, tri, di, monogliserit substratlarını bir oranda hidrolize eden esterolitik ve lipolitik enzimlere sahiptirler. Laktik asit bakterileri, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* ve *Flavobacterium*’a kıyasla daha zayıf lipolitiklerdir. Bu yüzden peynirde olgunlaşma süresince aşırı lipolize kadar bulunurlar, laktik asit bakterileri peynirde önemli düzeyde serbest yağ asidi oluşumundan sorumlu tutulmaktadır (Collins ve diğ., 2004). Serbest yağ asitleri peynirde direkt lezzet oluşumuna etkide bulunurlar.

Birçok olgunlaştırılan peynir çeşidinde tat üzerine serbest yağ asidi önemli derecede etkilidir. Peynirde serbest yağ asitleri düşük miktarlarda olmasına rağmen, peynirin duysal özellikleri üzerine önemli etkileri vardır (De Jong ve Badings, 1990).

Çiğ süttten üretilen peynirlerde pastörize süttten üretilen peynirlere oranla daha yoğun aroma vardır. Bu farklılık uçucu bileşenlerin profilleriyle de desteklenmektedir. Çiğ süttten yapılan peynirler, çeşitli alkoller, yağ asitlerini ve sülfür bileşenlerini yüksek miktarda içermeleri ile karakterize edilirken, pastörize süttten yapılan peynirler, yüksek miktarda keton içermeleri ile karakterize edilirler. Bu farklılıkların, çiğ süttten yapılan peynirlerde bulunan süttten doğal mikro florasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Buchin ve diğ., 1998). Çiğ süttten üretilen peynirlerin pastörize süttten üretilen peynirlere göre daha zengin aromaya sahip olması, starter olmayan bakteri sayısındaki düşüş ve sütte doğal olarak bulunan enzimlerin olası inaktivasyonuna bağlanmıştır (Rehman ve diğ., 2000).

2.4. Beyaz Peynirde Olgunlaşma

Beyaz peynir 2 ay-1 yıl arasında salamurada saklanan bir peynirdir. Bu süre içerisinde peynirde olgunlaşma meydana gelir. Beyaz peynir diğ er peynirlerden farklı olarak düşük pH'ya ve yüksek tuz içeriğine sahiptir. Horwood ve diğ. (1981) Beyaz peynir benzeri bir peynir olan Feta peynirinin karakteristik lezzetinin yüksek asitlik ve yüksek tuz içeriğinden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Karakuş ve diğ. (1992) starter kültür kullanılmadan üretilen Beyaz peynirlerdeki laktik asit bakterilerini incelemiştir. Beyaz peynirlerde olgunlaşma başlangıcında laktik floranın büyük bir bölümünün başta *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* olmak üzere *Lactococcus* türlerinden oluştuğı, *Enterococcus* türlerinin ikinci derece önemli grubu teşkil ettiğini saptamışlardır. Diğ er laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* türlerini de düşük oranlarda belirlemişlerdir. Olgun Beyaz peynir örneklerinde ise laktokokların laktik flora içindeki oranlarında düşüş, buna karşılık laktobasillerin oranında artış saptamışlardır. Bu grup bakteriler içinde hakim türlerin *Lb. casei* ve *Lb. plantarum* olduğunu belirlemişlerdir.

2.4.1. Beyaz Peynirde Proteoliz

Beyaz peynirde olgunlaşma sırasında azot fraksiyonlarındaki değişiklikler şöyle özetlenmektedir (Hayaloğlu ve diğ., 2002):

1. Çözünür azot fraksiyonu depolama sırasında sürekli artarken, toplam azot içeriği azalır. Toplam azot içeriğindeki düşüş proteoliz parçalanma ürünlerinin difüzyon ile salamuraya geçişi ile açıklanmaktadır.
2. Peynir mikroflorası proteolize katılır.
3. Farklı süt pıhtılaştırıcı enzimlerin peynir üretiminde kullanımı salamura olgunlaştırılan peynirlerde proteoliz düzeyini etkiler.
4. Beyaz peynir salamasının artan tuz içeriği olgunlaşmanın tüm aşamalarında proteolizi azaltır.

Güven ve Karaca (2001), çeşitli konsantrasyonlarda salamura ile tuzlanan Beyaz peynir örneklerinin proteoliz düzeyleri üzerine yaptıkları araştırmada, toplam azot içeriği depolama başlangıcında düşerken, 1.aydan itibaren artmıştır. Toplam azot içeriğindeki düşüşün sebebinin, kuru madde içeriğindeki düşüş ve bazı erimiş proteoliz ürünlerinin salamuraya geçmesi olduğu düşünülmüştür. Benzer olarak, Çakmakçı ve Kurt (1993), %14 ve %17 tuz içeren salamurayla tuzlanan Beyaz peynirlerde proteoliz düzeyini saptamışlardır. Suda çözünür azot miktarı %14 konsantrasyonda salamura tuzlanan Beyaz peynirde 2.günde %2.76'dan 90.günde 15.57'e yükselirken, %17 konsantrasyonda salamura tuzlanan Beyaz peynirde bu oran %3.14'den 13.25'e yükselmiştir.

Yetişmeyen ve diğ. (1996), Beyaz peynirin olgunlaşması üzerine yaptıkları çalışmada, 90 gün olgunlaşma süresince suda çözünür azot ve protein olmayan azot değerlerinde artış saptamışlardır. Toplam azot değerinde olgunlaşmanın başlangıcında artış, daha sonra azalış saptanmıştır. Farklı pastörizasyon normları (68°C/10 dk, 75°C/5 dk ve 85°C/5 dk) uygulanarak üretilen Beyaz peynir örneklerinin toplam azot içeriğinde çiğ süttten yapılan kontrol örneğine oranla düşük miktarda artış saptanmıştır. Bu artışın, ısı etkisiyle denatüre olan serum proteinlerinin pıhtıda tutulması ve proteinler arası interaksiyondan kaynaklandığı kayıt edilmiştir (Yetişmeyen ve diğ.,1995).

Beyaz peynir benzeri bir peynir olan feta peynirinde toplam azot içindeki suda çözünür azot oranı olgunlaşmanın 3.gününde %13.69 (%TN) iken 120.gününde 19.83 değerine artmıştır. Ayrıca TCA-çözünür azot konsantrasyonu 3.günde %4.75 (%TN) iken olgunlaşmanın 120. gününde 12.95'e yükselmiştir. Aynı çalışmada, toplam serbest amino asit konsantrasyonu 3.gün 0,236 ($A_{570 \text{ nm}}$) iken 120.günde 0,774 yükselmiştir (Katsiari ve diğ., 2000a).

2.4.2. Beyaz Peynirde Lipoliz

Beyaz peynir benzeri peynirlerde, serbest yağ asitlerinin lezzeti etkileyen önemli bileşenler olduğu bildirilmiştir. Bu tip peynirlerde serbest yağ asitlerinin, laktik asit bakterileri ve ikincil flora tarafından olgunlaşma sırasında oluşturulduğu düşünülmektedir. Dengeli lezzet gelişimi için, yağ hidrolizinin diğer süt bileşenlerinin hidrolizi ile aynı zamanda olması önemlidir (Georgala ve diğ., 1999).

Salamurada olgunlaştırılan Beyaz peynir türü peynirlerde meydana gelen lipoliz düzeyi bazı İtalyan veya mavi-küflü peynirlerde oluşan lipoliz reaksiyonlarından daha düşüktür (Hayaloğlu ve diğ., 2002). Beyaz peynir benzeri peynirlerde lipolize katkıda bulunan başlıca faktörler, sütün cinsi, süte uygulanan ısı işlem, kullanılan laktik starter kültür, olgunlaştırma ve depolama sıcaklığı, salamura konsantrasyonu ve süt lipazı ve rennette bulunan lipaz konsantrasyonudur (Abd El-Salam ve diğ., 1993). Akalın ve diğ. (1998), İzmir piyasasında satılan Beyaz peynir örneklerinde en fazla bulunan yağ asitlerinin sırasıyla palmitik (C16:0), oleik (C18:1), miristik (C14:0) ve kaprik (C10:0) asitler olduğunu bildirmişlerdir.

Çiğ süttten üretilen Beyaz peynirde uçucu yağ asidi miktarları, pastörize süttten starter kültür kullanılarak yapılan Beyaz peynirlere göre yüksek bulunmuştur (Koçak ve diğ., 1987). Yağ asidi miktarlarında saptanan bu farklılığın sebebi olarak, ısı işlemin süttteki lipazı inaktif hale getirmesinden ve starterin çiğ süttten yapılan peynirlerdeki bakteriler kadar lipolitik aktivite göstermemesinden kaynaklandığı belirtilmiştir.

Akın ve diğ. (2003) Beyaz peynirde 30 günlük olgunlaşma süresince serbest yağ asidi miktarları artmıştır. Belirli oranlarda pregastrik lipaz eklenen Beyaz peynir örneklerindeki yağ asidi miktarları kontrol örneğinde tespit edilen yağ asidi miktarlarından daha yüksek bulunmuştur. Farklı enzim düzeyleri kullanılarak

Üretilen Beyaz peynirlerdeki yağ asitlerinin oranları arasındaki farklılık, otoliz yoluyla hücre içi lipazlarını serbest bırakabilen bakterilerin yüksek miktarda bulunmasına bağlanmıştır.

Literatürde Beyaz peynirin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine birçok çalışma olmasına rağmen olgunlaşma sırasında meydana gelen değişiklikler üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Beyaz peynir üretim yöntemindeki farklılıklar tadın ve yapının geliştiği olgunlaşma dönemini etkileyecektir. Bu çalışmada, iki farklı üretim yöntemiyle üretilen Beyaz peynirlerde depolama sürecinde proteoliz ve lipoliz incelenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada geleneksel ve endüstriyel olmak üzere iki üretim metodu ile Beyaz peynir üretilmiştir ve 4°C’de depolanmıştır. Üretim farklı günlerde 3 kez tekrar edilmiştir. Peynir yapımında kullanılan sütün özellikleri Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Sütün pH’sı ortalama olarak 6,6’dır. Peynirler buzdolabında 4±1°C’de depolanarak, 1., 30., 60. ve 90. günlerde proteoliz ve lipolizi belirlemek için örnek alınmıştır. Peynirlerde tuz, asitlik, yağ ve nem içerikleri ve pH ölçülmüştür. Proteoliz toplam azot, trikloroasetik asitte (TCA) çözünür azot, suda çözünür azot ve toplam serbest amino gruplarının analizi ile, lipoliz serbest yağ asidi analizi ile ölçülmüştür. Bütün analizler iki paralelli yapılmıştır.

Tablo 3.1. Peynir üretiminde kullanılan sütün kimyasal özellikleri (Veral, 2003)

Bileşen	Miktar (%)
Yağ	3,60
Protein	3,09
Laktoz	4,50
Yağsız Kuru Madde	8,24

3.2. Peynir Üretimi

Beyaz peynirlerin üretiminde geleneksel ve endüstriyel yöntemler kullanılmıştır.

3.2.1. Endüstriyel Yöntemle Beyaz Peynir Üretimi

Süt 75°C’de 5 dk pastörize edilmiş ve 30-32°C’ye soğutulmuştur. Beyaz peynir için tavsiye edilen %1 mezofilik starter kültür süte katılarak 1 saat bekletilmiştir. 45

dakika bekletilerek %0,05 oranında CaCl_2 eklenmiştir. Rennet %0,005 oranında (Maxiren®, 50,000 MCU/mL, DSM, Hollanda) eklenerek, 90 dk pıhtı oluşumu için beklenilmiştir. Pıhtı kesildikten sonra peynir altı suyunun ayrılması için 45-90 dk bekletilmiştir. Presleme 10-15 kg/100 kg süt ağırlık kullanılarak 4-6 saat yapılmıştır. Teleme kalıplar halinde kesildikten sonra, 20-22°C sıcaklıkta, %12 NaCl konsantrasyonundaki salamurada 10-12 saat bekletildikten sonra vakum altında polietilen ambalajlarda paketlenerek, 4-5 °C’de 3 ay depolanmıştır. Peynir örnekleri birer ay arayla analiz edilmiştir.

3.2.1.2. Geleneksel Yöntemle Beyaz Peynir Üretimi

Süt 65°C’de 5 dk ısıtılarak, 30-32°C’ye soğutulmuştur. Rennet %0,005 oranında (Maxiren®, 50.000 MCU/mL, DSM, Hollanda) katılarak 90 dk pıhtı oluşumu için beklenilmiştir. Pıhtı kesildikten sonra peynir altı suyunun ayrılması için 45-90 dk bekletilmiştir. Presleme 10-15 kg/100 kg süt ağırlık kullanılarak 4-6 saat yapılmıştır. Teleme kalıplar halinde kesildikten sonra 20-22°C sıcaklıkta, %17 NaCl konsantrasyonundaki salamurada 10-12 saat bekletildikten sonra vakum altında polietilen ambalajlarda paketlenerek, 4°C’de 3 ay depolanmıştır. Peynir örnekleri birer ay arayla analiz edilmiştir.

3.3. Uygulanan Analizler

Beyaz peynirlere kimyasal analizler, proteoliz ve lipoliz analizleri uygulanmıştır.

3.3.1. Kimyasal Analizler

Beyaz peynirde yağ tayini peynir bütirometreleri kullanılarak Gerber metodu ile (TSE, 1978), kurumadde oranı gravimetrik olarak (TSE, 1987), titre edilebilir asitlik ve tuz tayini titrasyon yöntemi ile (TSE, 1989), protein tayini Kjeldahl yöntemi ile (TSE, 1991) ve pH ölçümü pH metre (WTW, 330i, Almanya) kullanılarak yapılmıştır.

3.3.2. Proteoliz Analizleri

Proteoliz düzeyini ölçmek için suda çözünür azot, TCA-çözünür azot ve serbest amino grupları analizleri yapılmıştır.

3.3.2.1. Suda Çözünür Azot Analizi

Peynirin suda çözünen azot ekstraktı Kuchroo ve Fox (1982)'in metoduna göre hazırlanmıştır. Peynir örneği (50 g) destile su içerisinde (250 mL) 3 dk homojenize edilmiştir (Ultra Turrax T25, Janke&Kangel GMBH Co, Almanya). Bu karışım 40°C'de 30 dk ısıtılarak, kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Bu süzöntüden 20 mL alınarak Kjeldahl yöntemiyle azot miktarı ölçölmüştür (TSE, 1991). Peynirlerdeki suda çözünür azot konsantrasyonu toplam azot içindeki oran (%N/TN) olarak ifade edilmiştir.

3.3.2.2. TCA (%12) Çözünür Azot Analizi

Suda çözünür azot ekstraktına hacimce 1:1 oranında %24 (w/v) TCA eklenmiştir ve manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Üstte kalan sıvı whatman 42 filtre kağıdından süzölmüştür (Katsiari ve diğ., 2000a). Süzöntüden 15 mL alınarak Kjeldahl yöntemiyle azot miktarı ölçölmüştür (TSE, 1991). Peynirlerdeki TCA-çözünür azot konsantrasyonu toplam azot içindeki oran (%N/TN) olarak ifade edilmiştir.

3.3.2.3. Serbest Amino Grupları Analizi

Peynir örneğinin suda çözünür azot fraksiyonu (Madde 3.3.2.1) Whatman 42 filtre kağıdından süzölmüştür. Süzöntüden 1 mL alınarak destile su ile bir gün olgunlaşmış peynir için 10 mL'ye, 1 ve 2 ay olgunlaşmış peynir için 50 mL'ye, 3 ay olgunlaşmış peynir için 100 mL'ye seyreltilmiştir (Bouton ve Grappin, 1994). Seyreltilen örnekten 0,2 mL alınarak, üzerine 2 mL 0,1 M borat tamponu (pH 9,5) ve 0,8 mL trinitrobenzensulfonik asit (0,1 mg/mL, Sigma, ABD) eklenmiştir. Vorteks karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 37°C'de 60 dk su banyosunda bekletilmiştir. Reaksiyon 18 mM sodyum sülfid içeren 0,8 mL 2 mM Na₂HPO₄ eklenerek durdurulmuştur. Kör denemeler peynir ekstraktı yerine su kullanılarak yapılmıştır. Meydana gelen bileşiklerin 420 nm'de absorbandsı spektrofotometre kullanılarak

ölçülmüştür (Philips, PU 8625, İngiltere). Serbest amino gruplarının konsantrasyonu (mM) 0,01–0,50 mM–glisin ile hazırlanan standart eğri (Tablo A.1, Şekil A.1) kullanılarak toplam azot içindeki oran olarak (g N/kg TN) hesaplanmıştır (Bouton ve Grappin, 1994).

3.3.3. Lipoliz Analizi

Beyaz peynirlerde lipoliz düzeyi serbest yağ asidi analizi ile ölçülmüştür.

3.3.3.1. Serbest Yağ Asitleri Analizi

Peynirlerdeki serbest yağ asitleri konsantrasyonları De Jong ve Badings (1990)'in metodu adapte edilerek kullanılmıştır. Üç gram peynir örneğine standart olarak 0,3 mL nonanoik asit (0,5 mg/mL), 0,9 mL 2,5 M H₂SO₄ ve 9 g NaSO₄ eklenmiş ve vorteks karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu karışımdaki yağ 3 kez 3 mL dietileter/heptan (1:1 v/v) ile ekstrakte edilmiş ve santrifüj kullanılarak 5000 rpm'de 5 dk ayrılmıştır. Elde edilen ekstrakt 1 g Na₂SO₄ içeren vidalı kapaklı tüpte toplanmıştır. Toplanmış dietileter/heptan ekstraktı serbest yağ asitlerini ayırmak amacıyla aminopropil SPE kolonundan (Accubond II, 3 mL, Agilent Technologies, İngiltere) geçirilmiştir. Kolonlar kullanımdan önce 10 mL heptan ile temizlenmiştir. Kolona tutunmuş olan serbest yağ asitleri 10 mL %2 formik asit içeren dietil eter ile vakum altında kolondan ayrıştırılmıştır. Balonda toplanan karışımdan dietil eter vakum altında uçurularak serbest yağ asitleri elde edilmiştir.

Metilleştirme işlemi kısa zincirli yağ asitlerinin kazanımını arttırmak amacıyla AOAC metodu değiştirilerek yapılmıştır (AOAC, 1998). Balonda kalan yağ asidi örneği üzerine yağ asidi oranına göre 5 mL BF₃/metanol çözeltisi eklenmiştir. Örnek balondan pastör pipeti yardımıyla vidalı kapaklı tüpe aktarılmıştır. Ağzı alüminyum folyo ile kapatılarak vorteks karıştırıcıda karıştırılan tüp, kaynar su banyosunda 5 dk tutulmuştur. Su banyosundan sonra soğutulan örneğin içine 3 mL hekzan eklenmiştir. Örnek karıştırıldıktan sonra 10 mL doymuş NaCl çözeltisi eklenmiştir. Örnek tekrar karıştırıldıktan sonra faz ayrılması beklenerek, üstteki faz 1 g Na₂SO₄ içeren vidalı kapaklı tüpe aktarılmıştır. Bu karışımdan 0,5 µL örnek alınarak serbest yağ asidi konsantrasyonları gaz kromatografisi kullanılarak tespit edilmiştir.

Yağ asitlerinin metil esterleri, kapiler kolon DB-WAX (30 m x 0.32 mm x 0.25 µm, J&W Scientific, ABD) kullanılarak gaz kromatografisi (GC-Trace 2000, Thermo Quest, İtalya) ile ayrılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum (35 mL/dk) ve yanma gazları olarak hava (350 mL/dk) ve hidrojen (30 mL/dk) kullanılmıştır. Kolona sıcaklık programı uygulanmıştır. Kolon önce 50°C’de 2 dk tutulduktan sonra, sıcaklık 50°C’den 230°C’ye 10°C/dk hızla artırılmış ve 230°C’de 2 dk bekletilmiştir. İnjektör sıcaklığı 260°C’de tutulmuştur. Elde edilen kromatogramlardaki metillendirilmiş yağ asidi pikleri standart yağ asidi metil esterlerinin (Supelco, ABD) alıkonma sürelerine göre tanımlanmıştır (Tablo B.1, Şekil B.1). Yağ asitlerinin konsantrasyonları standart konsantrasyonuna bağlı olarak hesaplanmıştır.

3.4. İstatistiksel Analiz

Peynirlerin bileşim özellikleri üzerine iki farklı üretim yönteminin (teknığının, metodunun) etkisi tekrarlar blok olacak şekilde anova ile incelenmiştir. Peynirlerde asitlik, pH ve proteoliz ve lipolizle ilgili ölçülen özellikler üzerine üretim yöntemi ve zamanın etkileri tekrarlar blok olacak şekilde anova ile incelenmiştir. Farklılıklar 0,05 önem düzeyinde belirlenmiştir.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bileşim

Beyaz peynirlerde nem, yağ, tuz ve toplam azot analileri yapılmıştır.

4.1.1. Nem

Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynir örneklerinde nem içeriği üzerine üretim metodunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo E.1) ($P < 0,05$). Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerin nem içeriği geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlere göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1). Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde yağsız maddede nem miktarı daha fazla bulunmuştur. Bunun sebebi olarak, ısıl işlemin artmasıyla serum proteinlerinin denatüre olması ve kazeinlerle kompleks oluşturması gösterilebilir (Bouton ve Grappin, 1994). Denatüre olan serum proteinlerinin su bağlama kapasitesinin yüksek olması sebebiyle endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirde nem oranı daha yüksek olacaktır. Yetişmeyen ve diğ. (1995) de benzer sonuçlar bulmuşlardır.

Öksüz ve diğ. (2004), çiğ süttten üretilen 150 Beyaz peynir örneği üzerine yaptıkları çalışmada nem içeriği %30 ile %61 arasında değişmiştir. Uraz ve Şimşek (1998) kasım ayında Ankara’da satılan 20 Beyaz peynir örneği üzerine yaptıkları çalışmada kuru madde miktarı %31.07-50.66 arasında bulmuşlardır. Bu çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur.

Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirde endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynire göre yağ oranı artarken, nem düzeyi düşmüştür.

Tablo 4.1. Endüstriyel ve Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerin bileşim özellikleri

Bileşim (%)	Endüstriyel ¹	Geleneksel ¹
Nem ²	62,0 ± 0,62	54,0 ± 3,43
Nem / Yağsız madde ²	75,9 ± 1,35	68,2 ± 4,61
Yağ ²	18,2 ± 0,99	20,8 ± 0,41
Yağ / Kuru Madde	48,1 ± 2,85	45,5 ± 3,98
Tuz ²	2,97 ± 0,12	3,34 ± 0,12
Tuz / Nem ²	4,78 ± 0,19	6,40 ± 0,52
Toplam azot ²	2,10 ± 0,05	2,43 ± 0,22
Protein / Kuru Madde	35,2 ± 0,97	33,8 ± 2,44

¹ Üç tekrarın ortalaması ve standart sapmasıdır.

² Üretim metodunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P < 0.05)

4.1.2. Yağ

Geleneksel ve endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresinde yağ miktarı üzerine üretim metodunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo E.3) (P<0,05). Yağ miktarı geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1). Ancak yağ/kuru madde oranına bakıldığında peynirlerin arasındaki farklılığın önemsiz olduğu görülmektedir (Tablo E.4) .

Uraz ve Şimşek (1998), Kasım ayında Ankara’da satılan 20 Beyaz peynir örneği üzerine yaptıkları çalışmada yağ içeriği %8.75-28.25 arasında değişmiştir. Bu çalışmada ki peynirlerin yağ içeriği değerleri bu aralıkta bulunmaktadır.

4.1.3. Tuz

Geleneksel ve endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz Peynir örneklerinde tuz içeriği üzerine üretim metodunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo E.5) (P > 0,05). Geleneksel Beyaz peynir üretiminde, yüksek tuz içeriğine sahip salamura kullanıldığından peynirlerdeki tuz oranı endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlere göre daha yüksek bulunmuştur.

Nemdeki değişimin tuz bileşimi üzerine etkisini azaltmak için tuz/nem oranının üretim metodu ile değişimi incelenmiştir. Tuz/nem oranı üzerine tekrar ve metodun

etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo E.6) ($P < 0,05$). Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde tuz/nem oranı daha düşük bulunmuştur (Tablo 4.1). Çakmakçı ve Kurt (1993) da farklı salamura konsantrasyonları (%14 ve 17) kullanarak ürettikleri Beyaz peynirlerde tuz oranının salamura konsantrasyonu arttıkça arttığını saptamışlardır.

4.1.4. Toplam Azot

Geleneksel ve Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz Peynir örneklerinde toplam azot konsantrasyonu üzerine metodun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo E.7) ($P < 0,05$). Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerdeki toplam azot değeri daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1). Bunun sebebi, geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde nem oranının düşük olması olabilir. Peynirlerde toplam azot/kuru madde değerlerinin benzer olması da bu açıklamayı desteklemektedir.

4.1.5. Asitlik

Geleneksel ve endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince asitlik değerinde zamanın ve metodun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo E.10) ($P < 0,05$). Depolama süresince her iki tip peynirde de asitlik değeri zamanla artmıştır (Tablo 4.2).

Asitlik endüstriyel yöntemle üretilen peynirlerde daha yüksek bulunmuştur. Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde sütte bulunan kontamine bakterilerin sayılarının azaltılması, starter laktik asit bakterilerinin eklenmiş olması ve bunların rekabet olmadan aktivite göstermeleri sebebiyle asitlik daha hızlı gelişmiş olabilir. Bunun yanında, geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde, süte uygulanan ısı işlem ile sütte doğal olarak bulunan bakterilerin sayılarında azalma olması, sayılarının daha yavaş artması ve/veya aktivitelerinin yavaş olması dolayısıyla asitlik yavaş gelişmiş olabilir. Geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde pH'nın üretimden sonra ve depolama süresince yüksek olması da peynirde doğal olarak bulunan bakterilerin aktivitelerinin yavaş olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.2. Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynir örneklerinde asitlik ve pH değerleri

Yöntem	Süre (gün)	Asitlik (%LA)	pH
Endüstriyel ¹	1	1,35 ± 0,11	4,61 ± 0,05
	30	1,45 ± 0,01	4,58 ± 0,01
	60	1,65 ± 0,05	4,62 ± 0,03
	90	1,74 ± 0,09	4,65 ± 0,04
Geleneksel ¹	1	0,85 ± 0,12	5,29 ± 0,22
	30	1,23 ± 0,17	5,21 ± 0,36
	60	0,98 ± 0,34	5,17 ± 0,25
	90	1,55 ± 0,60	5,06 ± 0,19

¹ Üç tekrarın ortalaması ve standart sapması

Ayrıca geleneksel yöntemle üretilen peynirlerdeki tuz miktarının yüksek olması bakteriyel aktiviteyi azaltarak asitlik gelişimini yavaşlatmış olabilir. Çakmakçı ve Kurt (1993) iki farklı tuz düzeyi kullanarak ürettikleri Beyaz peynir örnekleri üzerine yaptıkları çalışmada %14 salamurada tuzlanan peynir örneklerinde asitlik değerinde, %17 salamurada tuzlanan peynir örneklerine göre daha yüksek olduğunu ancak bu farklılığın istatistiksel olarak önemsiz olduğunu bildirmişlerdir.

Beyaz peynirlerde ölçülen asitlik değerleri bildirilen aralıklar arasında değişmektedir. Öksüz ve diğ. (2004), çiğ süttten üretilen 150 Beyaz peynir örneği üzerine yaptıkları çalışmada asitlik değerinin %0,49 ile 1,51 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Uraz ve Şimşek (1998), Kasım ayında Ankara’da satılan 20 Beyaz peynir örneği üzerine yaptıkları çalışmada asitlik miktarı %0.94-1.6 arasında değişmiştir.

4.1.6. pH

Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince pH değerinde metodun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo E.9) ($P < 0,05$). Her iki tip peynirde olgunlaşma süresinin, pH değeri üzerine etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). Düşük ısı işlem uygulanan geleneksel Beyaz peynirde pH değeri daha yüksek bulunmuştur.

Asitlikte farklılık gözlenmeyip, pH’da farklılık gözlenmesinin sebebi, pH’nın yalnızca serbest hidrojen iyonu konsantrasyonunu göstermesidir. Titre edilebilir

asitlik ise, NaOH'i nötralize edebilen herhangi bir maddenin ölçülmesidir. Sütte düşük miktarda bulunan asitlere ek olarak bazla birleşebilen birçok madde vardır. Bunlar sütte yağsız kurumadde kısmını oluştururlar ve proteinler, fosfatlar, sitratlar ve karbondioksit olarak sayılabilirler. Proteinler ve fosfatların etkisi çok önemlidir. Dolayısıyla peynirde pH ve asitlik birebir eşit değildir (Olson, 1975).

Geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde olgunlaşma süresince pH düşüşü gözlenmiş ancak bu düşüş istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Azarnia ve diğ. (1997) Beyaz peynire benzeyen İran salamura peynirinin pH'sı 90 gün olgunlaşma sonunda düşmüştür. Katsiari ve Voutsinas (1994) farklı yağ oranlarına sahip süttten yapılan Feta peynirlerinde 120 gün depolama sonucunda pH değerinin zamanla azaldığını bildirmişlerdir.

Öksüz ve diğ. (2004), çiğ süttten üretilen 150 Beyaz peynir örneği üzerine yaptığı çalışmada pH değeri 4,49 ile 5,51 arasında değişmiştir. Uraz ve Şimşek (1998), Kasım ayında Ankara'da satılan 20 çeşit Beyaz peynir örneği üzerine yaptıkları çalışmada pH değeri 4.21-4.76 arasında değişmiştir. Bu çalışmada ölçülen pH değerleri de bu aralıklar arasında değişmektedir.

4. 2. Proteoliz

Beyaz peynirlerde proteoliz değerleri depolama süresince artmış ve proteolizin depolama süresince devam ettiğini göstermiştir (Tablo C.3).

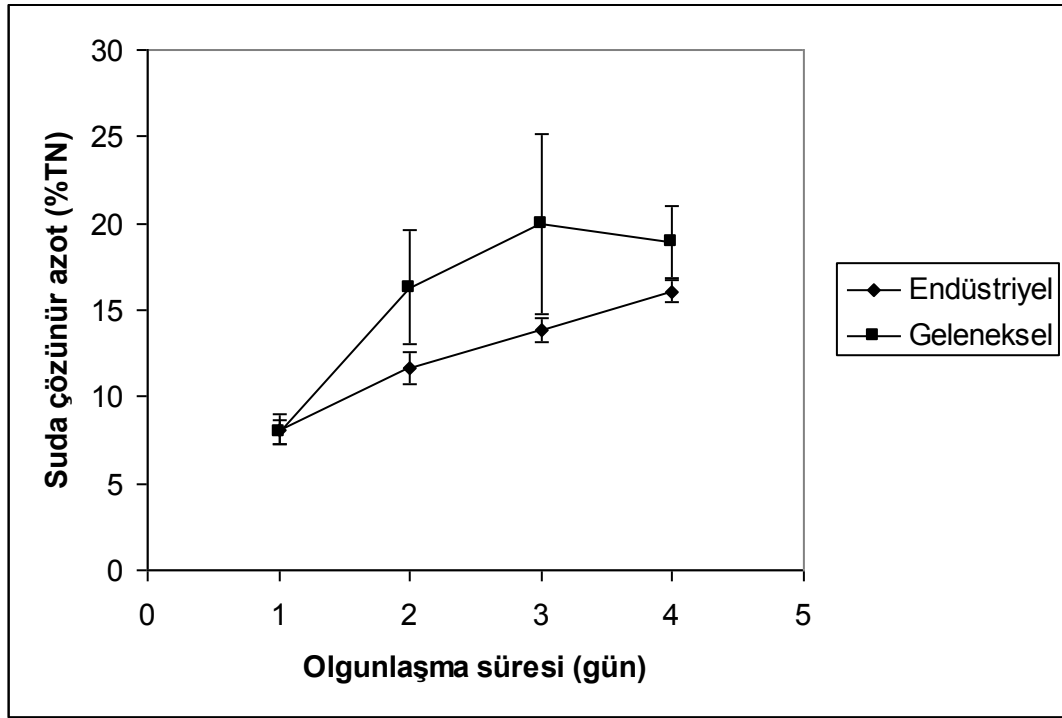
4. 2.1. Suda Çözünür Azot

Geleneksel ve Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz Peynir örneklerinde olgunlaşma süresince suda çözünür azot konsantrasyonunda zaman ve metodun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo E.12) ($P < 0,05$). Peynirde suda çözünür azot fraksiyonu, serum proteinlerini, kazeinin hidrolizi sonucu oluşan düşük molekül ağırlıklı peptidleri ve serbest amino asitleri kapsar. (Christensen ve diğ., 1991; McSweeney ve Fox, 1997). Suda çözünür azot kimozen ve düşük oranda plazmin aktivitesini gösterir. Starter proteinaz ve peptidazlar kimozenin ayrılan peptidleri üzerinde aktif olarak, düşük etkiye sahiptirler. α 1 kazein, kimozen ve pepsin tarafından hidrolize edilir, β -kazein plazmin tarafından hidrolize edilir (Katsiari ve

Voutsinas, 1994). Beyaz peynir benzeri olan Feta ve Teleme tipi peynirlerde, telemenin yüksek nem içeriğine sahip olması ve üretim sırasında telemeye düşük ısı işlem uygulanması rennetin diğer peynir çeşitlerine göre pıhtıda daha fazla kalmasına sebep olmaktadır (Abd El-Salam ve diğ., 1993; Michaelidou ve diğ., 1998). Bu yüzden, suda çözünür azot değeri ile ölçülen rennet aktivitesinin Beyaz peynirde proteolizde büyük önemi vardır.

Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirdeki suda çözünür azot değeri, geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynire göre daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.1). Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirin suda çözünür azot değerindeki artış iki katı olurken, geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynir de bu artış iki katından fazladır. Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde serum proteinlerinin yüksek sıcaklık sebebiyle daha fazla denatüre olması ve κ -kazeine kompleks oluşturarak misel yüzeyini rennet hidrolizine karşı bloke etmesi sebep olmuş olabilir (Lau ve diğ., 1991). Endüstriyel yöntemler üretilen Beyaz peynirlerde kalıntı rennet aktivitesi, düşük pH sebebiyle azaltılmış olabilir. Mulvihill ve Fox (1977) α_{s1} -kazeinin α_{s1} -I-kazeine hidrolizi için en uygun pH'nın 5.8 olduğunu ve kazein agregasyonu sebebiyle minimum hidrolizin pH 4.6'da olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Beyaz peynirde düşük pH ve yüksek asitlik sebebiyle plazmin aktivitesi beklenmemektedir (Abd-El Salam ve diğ., 1993; Michaelidou ve diğ., 1998).

Ayrıca Yetişmeyen ve diğ. (1996) Beyaz peynire uygulanan ısı işlem derecesi arttıkça, suda çözünür azot değerinin düştüğünü bulmuşlardır. Suda çözünür azot değerinde depolama süresinde ortaya çıkan artış, Azarnia ve diğ. (1997) tarafından Beyaz peynir benzeri İran salamura peynirinde gözlenmiştir. Ayrıca, Beyaz peynirde yüksek tuz/nem içeriği kimozin aktivitesini etkileyebilir. Cheddar peynirinde yüksek tuz / nem içeriği α_{s1} -kazein ve β -kazeinin hidrolizini azaltmıştır (Kelly ve diğ., 1996).



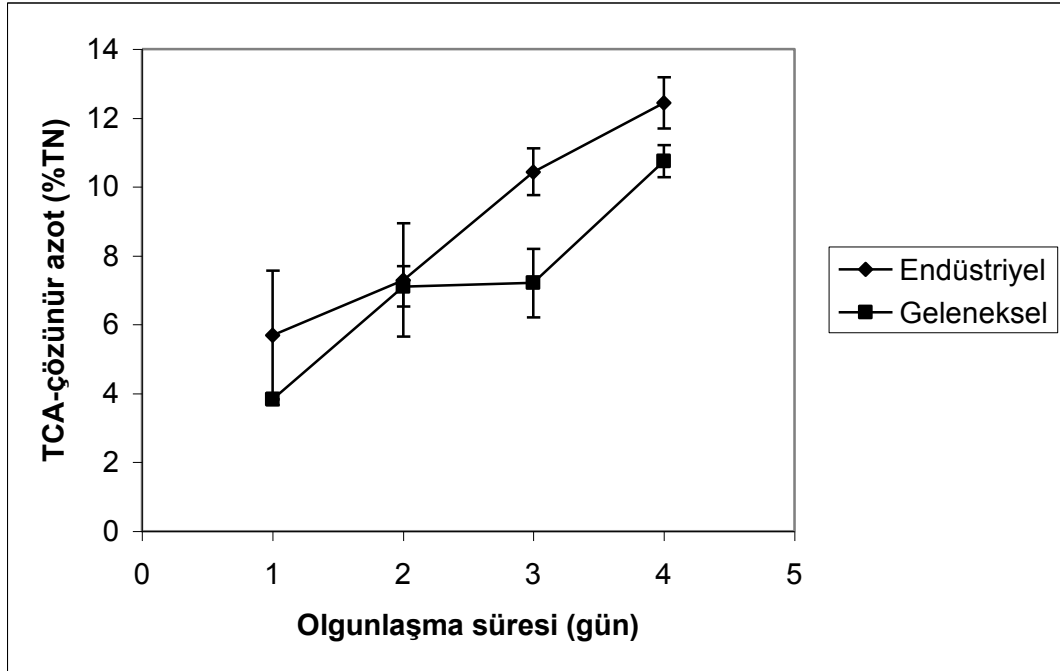
Şekil 4.1. Endüstriyel ve geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde depolama süresinde ölçülen suda çözünür azot konsantrasyonları

Güven ve Karaca (2001) Beyaz peynirde olgunlaşma başlangıcında %10,36 suda çözünür azot miktarının, 90 günde % 23,35'e çıktığını bildirmişlerdir. Olgunlaşma sırasında suda çözünür azot değerindeki artış, suda çözünmeyen azot fraksiyonlarının proteoliz süresince pepton ve aminoasit gibi çözünür fraksiyonlara ayrışmasından kaynaklanmaktadır. Yetişmeyen ve diğ. (1996)'nin 75°C'de 5 dk pastörize edilen süttten yaptıkları endüstriyel Beyaz peynir örneklerindeki suda çözünür azot miktarı yaklaşık 90 gün depolama boyunca 5 kat artmıştır. Katsiari ve Voutsinas (1994), düşük yağlı Feta peynirinde suda çözünür azot miktarı %14,7'den 60. günde %17,2'ye çıktığını bulmuşlardır. Çakmakçı ve Kurt (1993) Beyaz peynirde olgunlaşma ile suda çözünen protein miktarında artış olduğunu ve kazeinler arasında en çok α -kazeinin parçalandığını bildirmişlerdir.

4. 2.2. TCA-Çözünür Azot

Geleneksel ve endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince TCA-çözünür azot değerinde zaman ve metodun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo E.10) ($P < 0,05$). Her iki tip peynirde de olgunlaşma süresince TCA-çözünür azot değeri düzenli olarak artmıştır (Tablo C.1). Geleneksel

yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde TCA-çözünür azot değerleri endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerdekine göre daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.2). Peynirde TCA- çözümlür azot fraksiyonları, küçük peptidleri ve bakterilerin proteolitik faaliyeti sonucu oluşan aminoasitleri (Christensen ve diğ., 1991) ve düşük düzeyde rennet aktivitesini göstermektedir (McSweeney ve Fox, 1997). Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynire göre yüksek düzeyde TCA-çözünür azot miktarı olmasının sebebi, yüksek nem içeriği ve düşük tuz / nem içeriği sebebiyle yüksek starter bakteri aktivitesi sonucunda olabilir. Beyaz peynirde bulunan TCA-çözünür azot düzeyleri Katsiari ve diğ. (2000a) Feta peyniri üzerine yaptıkları araştırma sonuçları ile benzerdir.

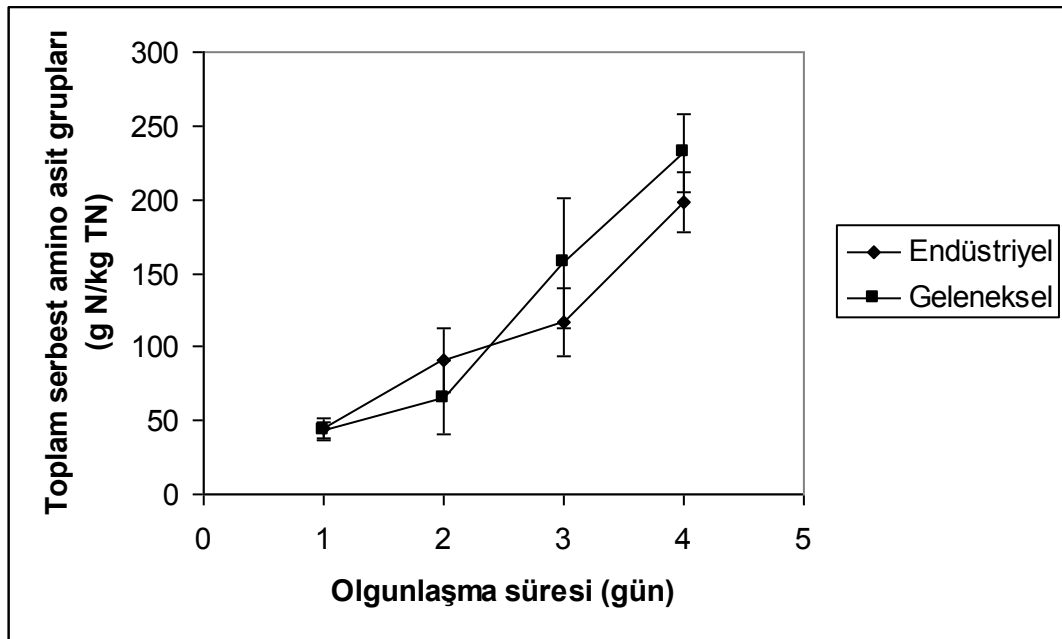


Şekil 4.2. Endüstriyel ve geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde depolama süresinde ölçülen TCA-çözünür azot konsantrasyonları

Romeih ve diğ. (2002) yaptıkları çalışmada, olgunlaşma sırasında suda çözümlür ve %12 TCA-çözünür azot bileşenleri olgunlaşma süresince artmakta olduğunu kaydetmişlerdir. Artış oranı, olgunlaşmanın ilk 15 gününde yüksek iken, bu oran daha sonra düşmüştür. Peynirlerin soğuk depolara sevk edilmeden önce arttırılmış depolama sıcaklıklarında (18°C) bekletilmesi sebebiyle, biyokimyasal değişimler olumlu etkilenmektedir.

4. 2.3. Toplam Serbest Amino Grupları

TNBS metodu ile ölçülen serbest amino grubu miktarları, Bouton ve Grappin (1994) ve Barlow ve diğ. (1986) tarafından bildirilen değerler aralığındadır. Serbest amino grubu miktarları üzerine üretim metodunun etkisi bulunmamıştır ancak depolama süresinin etkisi bulunmuştur (Tablo E.13) ($P < 0,05$). Toplam serbest amino grubu miktarları olgunlaşma süresince artmıştır (Şekil 4.3). Polychroniadou (1988) suda çözünür azot ve TNBS reaktif amino grupları konsantrasyonları arasında pozitif ilişki olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada, üretim metodu suda çözünür azot miktarı üzerine etkili bulunmuş, ancak serbest amino grubu miktarı üzerine etkili bulunmamıştır. Ayrıca, geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde depolamanın 60. ve 90. günlerinde amino gruplarının düzeyleri, endüstriyel yöntemle üretilen peynirlere kıyasla daha yüksek bulunmasına rağmen bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$).



Şekil 4.3. Endüstriyel ve geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde toplam serbest amino grupları konsantrasyonu

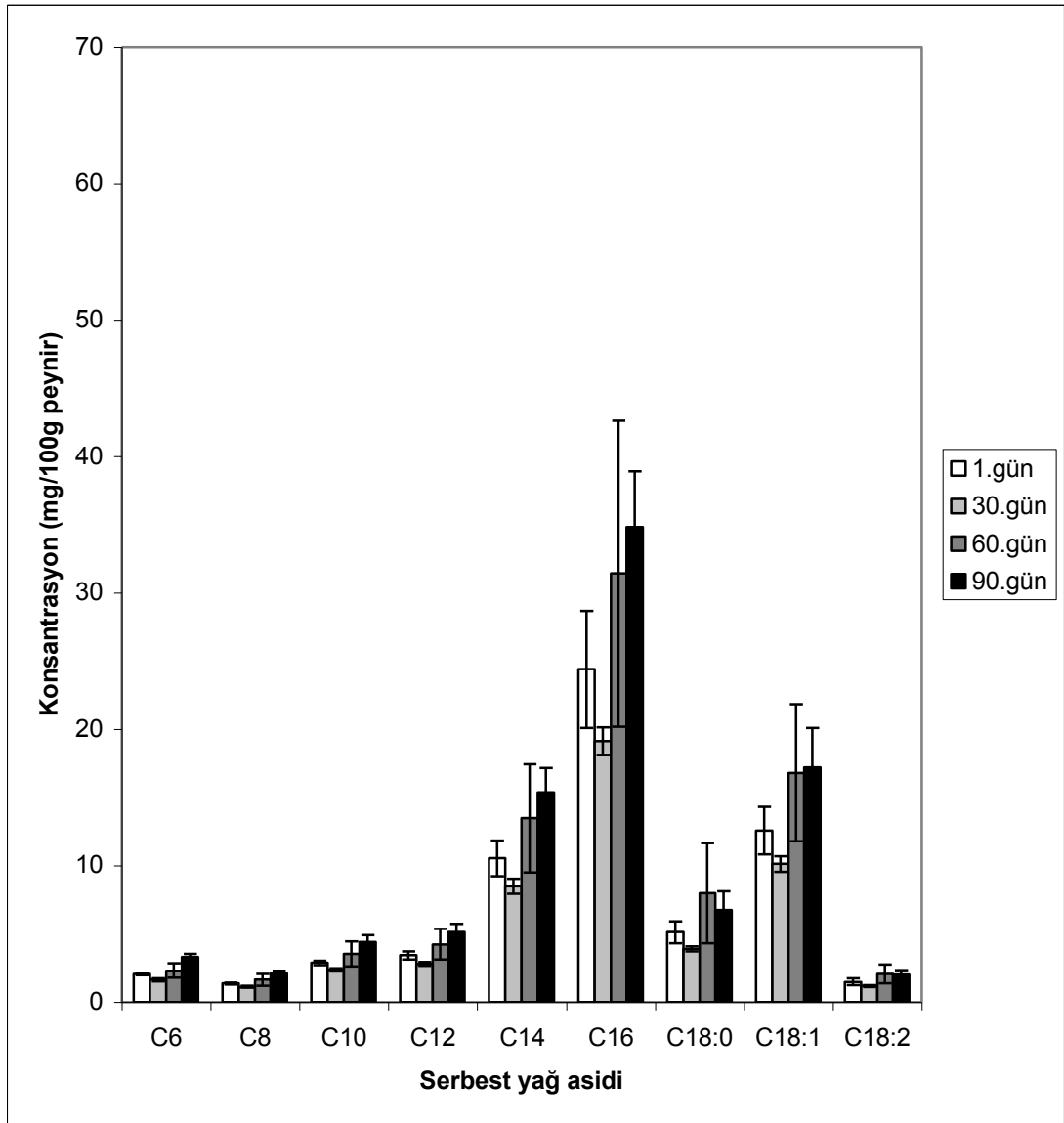
Abd El-Salam ve diğ. (1993) starter olmayan laktik asit bakterilerinin peynir ortamına daha iyi adapte olabileceğini ve depolama sırasında proteolize katılabileceğini kaydetmişlerdir. Mendia ve diğ. (2000) ve Rehman ve diğ (2000a) de çiğ süttten yapılan Idiazabal ve Cheddar peynir örneklerinde pastörize süttten yapılan peynir örneklerine göre daha yüksek düzeyde serbest aminoasit bulmuşlardır. Bu

araştırmacılar, Cheddar peynirinde proteoliz üzerine starter olmayan laktik asit bakterilerinin önemli etkisi olduğunu ileri sürmektedirler. Starter kültür kullanılmadan üretilen Beyaz peynir örneklerinde starter olmayan laktik asit bakterileri olarak laktokoklar en önemli tür ve enterokoklar daha düşük düzeyde önemli tür olarak bulunmuşlardır (Karakuş ve diğ., 1992). Ancak, Beyaz peynirde düşük pH ve yüksek tuz/nem düzeyi laktik asit bakterilerinin aktivitesini düşürebilir (Fox ve diğ., 1990; Abd El-Salam ve diğ., 1993). Al-Otabibi ve Wilbey (2004) ultrafiltre süttten üretilen tuzlu Beyaz peynirlerde tuz / nem düzeyi arttıkça, suda çözünür azot, TCA-çözünür azot ve serbest amino asit düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir.

4. 3. Lipoliz

Tüm yağ asitlerinin miktarları üzerine üretim yönteminin etkisi istatistiksel olarak önemli (Tablo E.14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22) ($P < 0,05$), depolama süresinin etkisi ise önemsiz bulunmuştur. Tüm yağ asitleri geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur (Tablo D.1). Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde süt lipazı ve varolan doğal mikrofloranın lipaz enzimlerinin etkisi ile yağ asitleri miktarları endüstriyel yöntemle üretilen peynirlere göre daha fazla bulunmuş olabilir (Şekil 4.4, 4.5). Endüstriyel yöntemle üretilen peynirlerde bulunan laktik starter kültürleri zayıf da olsa lipolitik aktiviteye sahiptirler ve depolama süresince aktivite gösterebilirler. Ancak bu tip peynirin pH'sının daha düşük olması ve tuz oranının genel olarak Beyaz peynirde yüksek olması bakteriyel aktiviteyi etkileyebilir. Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynire işlenen süte düşük derecede ısı işlem uygulanması sebebiyle süt lipazı aktivitesinin daha yüksek olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde bulunan karışık mikrofloradaki bakterilerin lipolitik enzimleri de bu peynirlerdeki lipolize katkıda bulunabilir. Depolama süresinin artmasıyla birlikte yağ asitlerinin miktarında görülen artış, daha çok bakteriyel lipazların etkisiyle açıklanabilir. Peynirde bakteri hücrelerinin zamanla parçalanmasıyla birlikte, enzimleri açığa çıkmakta ve lipolize katkıda bulunabilmektedir.

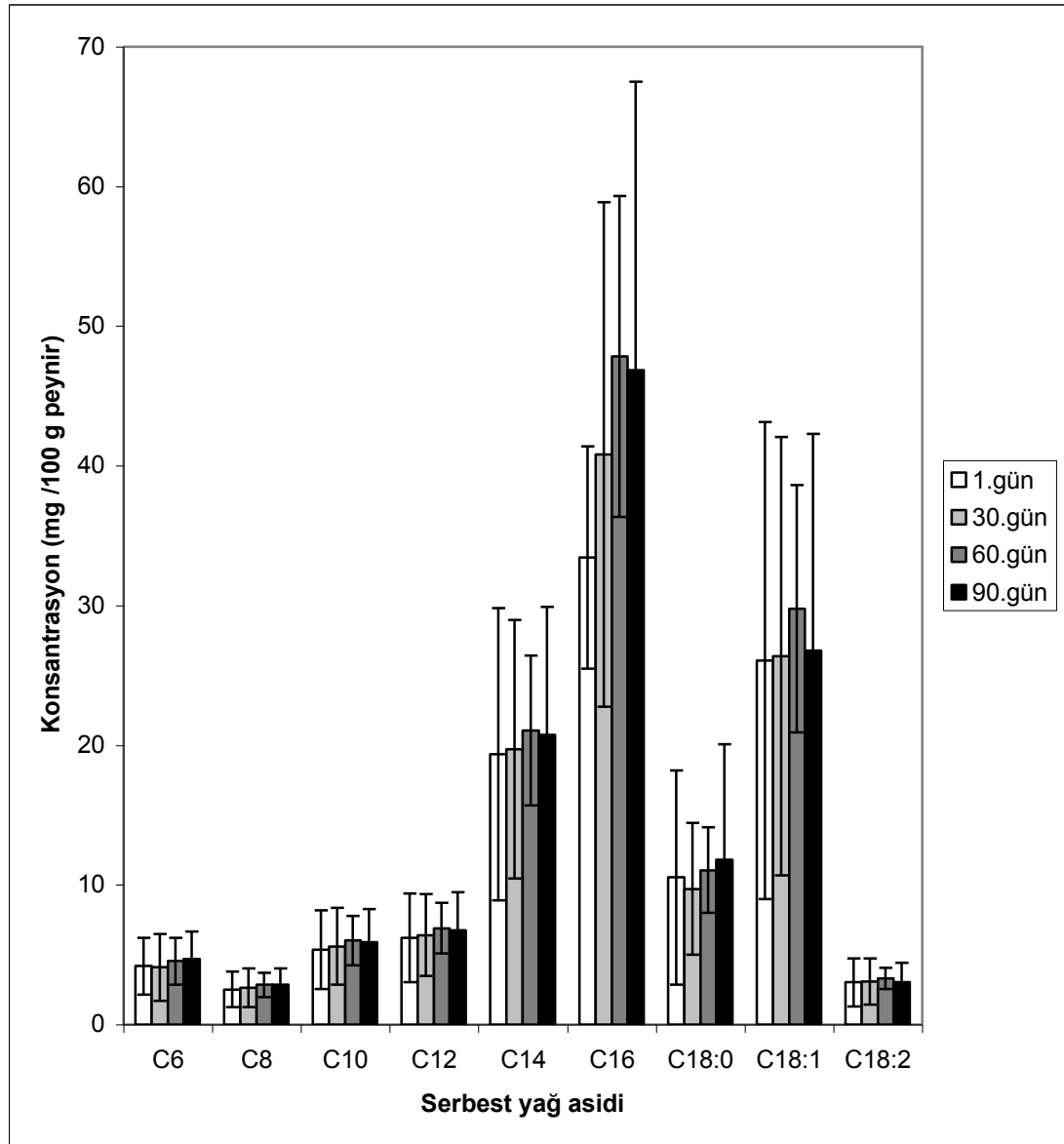
Yağ asitleri miktarları depolama süresince, özellikle geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde dalgalanma göstermiştir (Şekil 4.4, 4.5). Bu dalgalanmaya bağlı olarak depolama süresince az da olsa meydana gelen artış önemsiz bulunmuştur.



Şekil 4.4. Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirde depolama süresinde serbest yağ asidi profili

Yetişmeyen ve diğ. (1996) ve Koçak ve diğ. (1987)'nin farklı ısı işlem uygulanmış sütte yapılan Beyaz peynirlerde buldukları sonuçlar da uçucu yağ asidi düzeyi (ml NaOH / 100 g) ile benzerdir. Buffa ve diğ. (2001) de pastörize koyun sütünden yapılan peynirlerdeki serbest yağ asidi düzeyi, çiğ sütte yapılan peynirlerdeki düzeyinden daha düşük bulunmuştur. Rehman ve diğ (2000b) çiğ sütte yapılan Cheddar peynirinde lipoliz üzerine süt lipazının yanında starter olmayan laktik asit bakterilerinin bazı türlerinin lipolitik aktivitesinin de önemli rol oynadığını ileri sürmektedirler. McSweeney ve diğ. (1993) çiğ sütte yapılan Cheddar peynirinde bulunan doymuş yağ asidi konsantrasyonunun pastörize sütte yapılan peynir

örneklerinde bulunan yağ asidi konsantrasyonunun yüksek olmasını ısıtıl işlemin süt lipazı üzerine etkisinden çok starter olmayan mikrofloraya bağlamışlardır. Ancak bu çalışmada geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerin depolanması sırasında serbest yağ asidi düzeyinde önemli artış olmamıştır. Bu nedenle, geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde lipoliz üzerine süt lipazı bakteriyel lipazdan daha fazla etkili olabilir. Ayrıca, endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde starter ve starter olmayan bakteriler depolama sırasında lipolitik aktivite göstermiş olabilirler.



Şekil 4.5. Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirde depolama süresinde serbest yağ asidi profili

Beyaz peynirde en çok bulunan yağ asitleri palmitik, oleik ve miristik asittir. Akalın ve diğ. (1998) Beyaz peynir için, Azarnia ve diğ. (1997) İran salamura peyniri için, Efthymiou (1967) Feta peyniri için ve Mallatou ve diğ. (2003) Teleme peyniri için benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Olgunlaşma sırasında peynirlerde özellikle geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde serbest yağ asidi düzeylerinde dalgalanma olmuştur. Bunun sonucunda, depolama sırasında serbest yağ asitleri düzeylerindeki düşük artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde ise serbest yağ asidi düzeyindeki artış depolamanın 60. gününden sonra belirgin bir fark gözlenmiştir. Tekrarlar arasındaki farklılıklar ve aynı tekrardaki peynirlerdeki lokal farklılıklar ölçülen serbest yağ asidi düzeyini etkilemektedir. Özellikle geleneksel yöntemle üretilen peynirlerde paralel ölçümler arasındaki farklılıklar, aynı sütte üretilen peynirlerde farklılık olabileceğini göstermektedir. Koçak ve diğ. (1987) de Beyaz peynirde uçucu yağ asitleri düzeyinde 90 gün olgunlaşma süresince değişiklik bulmamışlardır ve bunu yağ asitlerinin başka reaksiyonlara katılmasına bağlamışlardır. Akın ve diğ. (2003) Beyaz peynirde serbest yağ asidi düzeyinde küçük artışlar bulmuşlardır. Beyaz peynirde yüksek oranda lipoliz için dışarıdan lipaz eklenmesi gerekmektedir.

Laktik asit bakterilerinin lipazlarının büyük çoğunluğu optimum aktiviteyi pH 7,0-8,5 arasında ve 37 °C sıcaklıkta göstermekte ve aktivitesi NaCl konsantrasyonundan etkilenmektedir (Collins ve diğ., 2003). Vlaemynck (1992) süt lipazının pH 5,3'de gösterdiği aktivitenin %19'unu pH 7,8'de gösterdiği bulmuşlardır. Buna ek olarak, lipaz aktivitesi 0,1 M NaCl konsantrasyonundan etkilenmezken, 1 M NaCl konsantrasyonunda aktivitesinin %85'ini kaybetmektedir. Bu nedenle, Beyaz peynirdeki düşük pH ve yüksek tuz/nem içeriği süt lipazının ve bakterilerin lipolitik aktivitesini düşürebilir.

Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde yüksek ısı işlem uygulanmasının süt lipazını inaktif etmesi ve düşük pH lipoliz düzeyinin düşmesine sebep olabilir. Ancak 60 gün depolama sonunda serbest yağ asidi düzeyindeki küçük artışlar, depolama sırasında bakteriyel lipazların aktivitesini göstermektedir. Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde, olgunlaşmanın başlangıcında serbest yağ asit miktarlarının yüksek olması ve 90 gün depolama süresince konsantrasyonlarında önemli değişiklik olmaması üretim sırasında süt lipazı ve muhtemelen bakteriyel

lipazların aktif olduğunu ancak depolama süresinde bunların aktif olmadığını gösterebilir. Ayrıca geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde yüksek tuz / nem içeriği süt lipazı ve bakteriyel lipazların aktivitesini depolama süresince düşürebilir. Azarnia ve diğ. (1997) ve Mallatou ve diğ. (2003) İran salamura peyniri ve Teleme peynirlerinde bakteriler tarafından yapılan lipoliz üzerine yüksek tuz konsantrasyonunun inhibe edici etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerin bileşimi, proteoliz ve lipoliz düzeyleri arasında farklılıklar bulunmuştur. Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirde düşük pH ve her iki peynirdeki yüksek tuz/nem konsantrasyonu, starter ve starter olmayan bakterilerin aktivitesini azaltabilir. Depolama süresinde her iki tür peynirde de proteoliz devam etmiş ve starter ve starter olmayan bakterilerin proteolize katıldığını göstermiştir. Her iki tip peynirde de lipoliz sınırlı düzeyde gerçekleşmiştir. Beyaz peynirde düşük pH ve yüksek tuz/nem konsantrasyonu süt lipazı ve bakteriyel lipazların aktivitelerini azaltmış olabilir. Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde endüstriyel yöntemle üretilen peynirlere göre lipoliz düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde lipoliz düzeyinin yüksek olması süte düşük ısıl işlem uygulanmasıyla tamamen inaktive olmayan süt lipazının ve starter olmayan bakterilerin varlığına bağlanmıştır.

Endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerden elde edilen sonuçlar, geleneksel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerden elde edilen sonuçlara göre daha tekrar edilebilir bulunmuştur. Bu nedenle, standart kalitede Beyaz peynir elde etmek için endüstriyel üretim metodu tercih edilmelidir. Bunun yanında, pastörize süttten daha iyi tat ve aromaya sahip Beyaz peynir üretimi için, çiğ süt florası yüksek proteolitik ve lipolitik aktivitesi olan starter kültürlerin bulunması için araştırılmalıdır. Beyaz peynirde lipolizi ve aynı zamanda tat ve aromayı arttırmak için lipaz eklenmesi veya depolama süresinin uzatılması alternatif yöntemler olabilir.

KAYNAKLAR

- Anonim,** 1999. TED case Studies / Feta Cheese, <http://www.american.edu/projects/mandala/TED/feta.htm>.
- Anonim,** 2001. Sekizinci Beşyılılık Kalkınma Planı. Gıda sanayi OİK raporu süt ve süt ürünleri alt komisyon raporu. <http://ekutup.dpt.gov.tr/gida/oik644.pdf>
- Anonim,** 1999. SPSS® Base 9.0, Applications Guide (s. 135-175). Chicago, Illinois; SPSS Inc.
- Abd El-Salam, M.H., Alichanidis, E. and Zerfiridis, G.K.,** 1993. Domiati and Feta type cheeses, *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, Vol. 2. (pp. 277-309). Fox P.F. ed. London: Elsevier Applied Science.
- Al-Otaibi, M.M., Wilbey, R.A.,** 2004. Effect of temperature and salt on the maturation of white-salted cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57(1), 57-63.
- Akalın, A.S., Kınık, Ö. ve Gönç, S.,** 1998. İzmir piyasasında satılan bazı peynir çeşitlerinde yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi üzerine araştırmalar, *Gıda* 23(5), 357-363.
- Akın, N.,** 2002. Peynirin Olgunlaşmasında Starter Olmayan Laktik Asit Bakterilerinden Kaynaklanan Proteoliz, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Teknolojisi Derneği 22-24 Mayıs Ankara Üniversitesi Basımevi, 2002 Ankara.
- Akın, N., Aydemir, S., Koçak, C. ve Yıldız, M.A.,** 2003. Changes of free fatty acid contents and sensory properties of white pickled cheese during ripening, *Food Chemistry*, 80, 77-83.
- Ardö, Y. and Meisel, H.,** 1991. Methods for direct measurement of peptide bonds cleavage in cheese, *Bulletin of the International Dairy Federation*, 261, 10-14.
- Azarnia, S., Ehsani, M.R. and Mirhadi, S. A.,** 1997. Evaluation of the physico-chemical characteristics of the curd during the ripening of Iranian brine cheese, *International Dairy Journal*, 7, 473-478.
- AOAC.** 1998. Official Method 969.33, Fatty acids in oils and fats. *In Official Methods of Analysis of AOAC International*, Cunniff P, ed. Arlington VA: AOAC International.
- Barlow, I.E., Lloyd, G.T. and Ramshaw, E.H.,** 1986. The measurement of proteolysis in Cheddar cheese: A comparison of trinitrobenzene

sulphonic acid procedures, *Australian Journal of Dairy Technology*, June / September, 79-81.

- Bouton, Y. and Grappin, R.**, 1994. Measurement of proteolysis in cheese: relationship between phosphotungstic acid- soluble N fraction by Kjeldahl and 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid-reactive groups in water-soluble, *Journal of Dairy Science*, **61**, 437-440.
- Buchin, S., Delague, V., Duboz, G., Berdague, J.L., Beuvier, E., Pochet, S. and Grappin, R.**, 1998. Influence of pasteurization and fat composition of milk on the volatile compounds and flavor characteristics of a semi-hard cheese, *Journal Dairy Science*, **81**, 3097-3108
- Buffa, M., Guamis, B., Pavia, M. and Trujillo, A.J.**, 2001. Lipolysis in cheese made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk, *International Dairy Journal*, **11**, 175-179..
- Christensen, T.M.I.E., Bech, A.M. and Werner, H.**, 1991. Methods for crude fractionation (extraction and precipitation) of nitrogen components in cheese, *Bulletin of the International Dairy Federation* N 261, 4-9.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H. and Wilkinson, M.G.**, 2003. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge, *International Dairy Journal*, **13** (11), 841-866.
- Creamer, L.K.**, 1991. Electrophoresis of cheese, *Bulletin of the International Dairy Federation* N 261, 14-26.
- Çakmakçı, S. ve Kurt, A.**, 1993. Salamura tuz oranı ve olgunlaşma süresinin CaCl_2 ve lesitin ilavesiyle üretilen Beyaz salamura peynir kalitesine etkisi, *Gıda*, **18** (1), 21-28.
- De Jong, C. and Badings, H.T.**, 1990. Determination of free fatty acids in milk and cheese- Procedures for extraction, clean up, and capillary gas chromatographic analysis, *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 94-98.
- Efthymiou, C.**, 1967. Major free fatty acids in feta cheese, *Journal of Dairy Science*, **50** (1), 20-24.
- Gaborit, P., Menard, A. and Morgan, F.**, 2001. Impact of ripening strains on the typical flavour of goat cheeses, *International Dairy Journal*, **11**, 315-325
- Georgala, A.K., Kandarakis, I.G., Kaminarides, S.E. and Anifantakis, E.M.**, 1999. Volatile free fatty acid content of feta and white-brined cheeses, *The Australian Journal of Dairy Technology*, **54** (1)-April.
- Güven, M., ve Karaca, O.B.**, 2001. Proteolysis levels of white cheeses salted and ripened in brines prepared from various salts, *International Journal of Dairy Technology*, **54** (1), 29-33.
- Hayaloglu, A.A., Güven, M. and Fox, P.F.**, 2002. Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir', *International Dairy Journal*, **12**, 635-648.

- Horwood, J.F., Llyoyd, G.T. and Stark, W.,** 1981. Some flavour components of Feta cheese, *The Australian Journal of Dairy Technology*, **36** (1), 34-37.
- Karakus, M., Borcaklı, M. ve Alperden, I.,** 1992. Beyaz peynirin olgunlaşma süresince laktik asit bakterileri, *Gıda*, **17**(6), 363-369.
- Karakuş, M.,** 1994. Beyaz peynirden izole edilen laktik asit bakterilerinin asit oluşturma ve proteolitik aktiviteleri, *Gıda*, **19**(4), 237-241.
- Katsiari, M.C. and Voutsinas, L.P.,** 1994. Manufacture of low-fat Feta cheese, *Food Chemistry*, **49**, 53-60.
- Katsiari, M.C., Alichanidis, E., Voutsinas, L.P. and Roussis, I.G.,** 2000a. Proteolysis in reduced sodium Feta cheese made by partial substitution of NaCl by KCl, *International Dairy Journal*, **10** (9), 635-646.
- Katsiari, M.C., Alichanidis, E., Voutsinas, L.P. and Roussis, I.G.,** 2000b. Lipolysis in reduced sodium Feta cheese made by partial substitution of NaCl by KCl, *International Dairy Journal*, **10** (5-6), 369-373.
- Kelly, M., Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H.,** 1996. Effect of salt-in-moisture on proteolysis in Cheddar-type cheese, *Milchwissenschaft*, **51**, 498-501.
- Koçak, C., Aydınoglu, G. ve Uslu, K.,** 1997. Ankara piyasasında satılan dil peynirlerinin proteoliz düzeyi üzerinde bir araştırma, *Gıda*, **22** (4), 251-255.
- Koçak, C., Gürsel, A. ve Ergül, E.,** 1987. Farklı tuzlama yöntemlerinin Beyaz peynirde uçucu yağ asitleri oluşumuna etkisi, *Gıda*, **3**, 179-184.
- Kondyli, E., Massouras, T., Katsiari, M.C. and Voutsinas, L.P.,** 2002b. Free fatty acids and volatile compounds of low-fat Feta -type cheese made with a commercial adjunct culture, *Food Chemistry*, **79**(2), 199-205.
- Kuchroo C.N. and Fox P.F.,** 1982a. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures, *Milchwissenschaft*, **37**, 331-335.
- Kuchroo C.N. and Fox P.F.,** 1982b. Fractionation of water soluble nitrogen from Cheddar cheese: chemical methods, *Milchwissenschaft*, **37**, 651-653.
- Kwan, KKH. and Skura, B.J.,** 1983. Comparison of four methods for determining protease activity in milk, *Journal of Food Science*, **48**, 1418-1421.
- Lau, K.Y., Barbano, D.M. and Rasmussen, R.R.,** 1991. Influence of pasteurization of milk on protein breakdown in Cheddar cheese during aging, *Journal of Dairy Science*, **74**, 727-740.
- McSweeney, P.L.H. and Fox, P.F.,** 1997, Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening, *Lait*, **77**, 41-76
- Mendia, C., Ibanez, F.J. and Barcina, Y.,** 2000. Effect of pasteurization and use of a native starter culture on proteolysis in a ewes' milk cheese, *Food Control*, **11**, 195-200.
- Michaelidou, A., Alichanidis, E., Urlaub, H., Polychroniadou, A. and Zerfiridis, G.K.,** 1998. Isolation and identification of some major water-soluble peptides in Feta cheese, *Journal of Dairy Science*, **81**, 3109-3116.

- Mulvihill D. M. and Fox, P.F.**, 1977. Proteolysis of α s1 kazein by chymosin: influence of pH and urea, *Journal of Dairy Research*, **44**, 533-540.
- Olson, N.F.**, 1975. The relationship between titratable acidity and pH, *Marschall Italian & Speciality Cheese Seminars*, 15, 1-6.
- Öksüz, Ö., Arici, M., Kurultay, S. ve Gümüş, T.**, 2004. Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey, *Food Control*, **15**, 453-456.
- Pahkala, E. and Antila, V.**, 1987. Proteolysis in cheese, *Meijeritieteellinen Aikakauskirja XLV*, **1**, 33-42.
- Prasad, N. and Alvarez, V.B.**, 1999, Effect of salt and chymosin on the physico-chemical properties of Feta cheese during ripening, *Journal of Dairy Science*, **82**, 1061-1067.
- Rehman, S.U., McSweeney, P.L.H., Banks, J.M., Brechany, E.Y., Muir, D.D. and Fox, P.F.**, 2000a. Ripening of Cheddar cheese made from blends of raw or pasteurised milk, *International Dairy Journal*, **10**, 33-44.
- Rehman, S.U., Banks, J.M., Brechany, E.Y., Muir, D.D., McSweeney, P.L.H. and Fox, P.F.**, 2000b. Influence of ripening temperature on the volatiles profile and flavour of Cheddar cheese made from raw or pasteurised milk, *International Dairy Journal*, **10**, 55-65.
- Romeih, E. A., Michaelidou, A., Biliaderis, C. G. and Zerfiridis, G. F.**, 2002. Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: chemical, physical and sensory attributes, *International Dairy Journal*, **12**, 525-540.
- Steele, J.L. and Ünlü, G.**, 1992. Impact of lactic acid bacteria on cheese flavor development, *Food Technology*, **46**, 128-135.
- Sousa, M.J., Ardö, Y. and McSweeney, P.L.H.**, 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening, *International Dairy Journal*, **11**, 327-345.
- Te Whaiti, I.E. and Fryer, T.F.**, 1976 . The influence of free fat on lipolysis in milk *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 273-274.
- TS-591**, 1989. Beyaz Peynir. *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- TS-8866**, 1991. Kazein ve kazeinatlar-Protein Tayini. *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- TS-5311**, 1987. Peynir ve işlenmiş peynir. *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- TS-3046**, 1978. Peynirde yağ tayini. *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Uraz, T. ve Şimşek, B.**, 1998. Ankara piyasasında satılan Beyaz peynirlerin proteoliz düzeylerinin belirlenmesi, *Gıda*, **23** (5) :371-375.
- Vandeweghe, P. and Reineccius, G.A.**, 1990. Comparison of Flavor Isolation Techniques applied to Cheddar cheese, *Journa of Agriculture Food Chemistry*, **38**, 1549-1552.
- Veral, S.**, 2003. Kişisel görüşme.

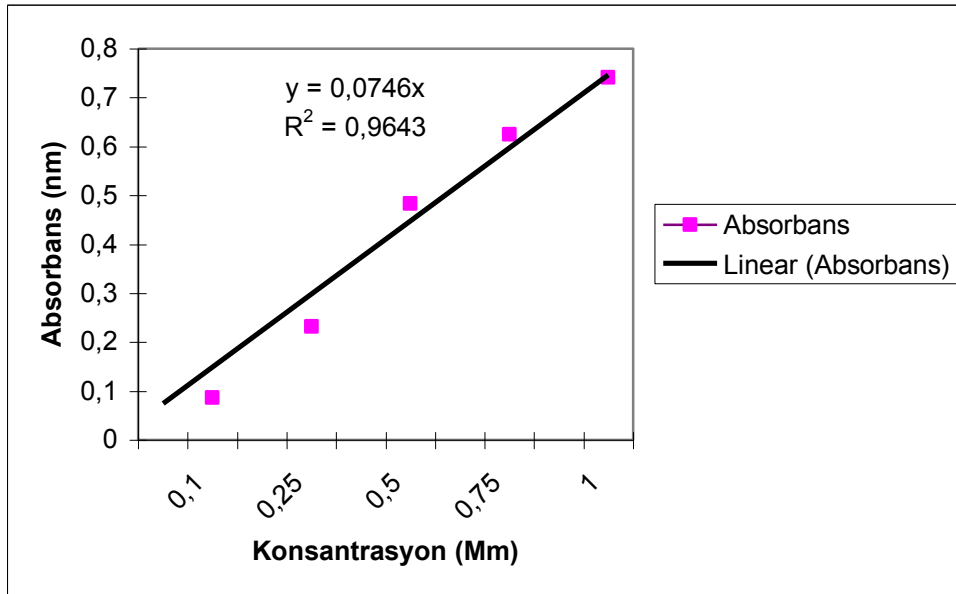
- Visser, S.**, 1993. Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavor: An overview, *Journal of Dairy Science*, **76**, 329-350.
- Vlaemynck, G.**, 1992. Study of lipolytic activity of the lipoprotein lipazse in lunch cheese of the Gouda type, *Milchwissenschaft*, **47**, 164-167.
- Woo, A.H. and Lindsay, R.C.**, 1981, Rapid method for quantitative analysis of individual free fatty acids in Cheddar cheese, *Journal of Dairy Science*, **65**, 1102-1109.
- Yetişmeyen, A., Kaptan, B. ve Somanlıoğlu, M.A.**, 1996. Effects of different heat-treatments on quality of white pickled cheese, *Gıda*, **21**(5), 347-357.
- Yetişmeyen, A., Osmanlıoğlu, MA. ve Kaptan, B.**, 1995. Beyaz peynir sütünė uygulanan pastörizasyon normlarının teleme ve peyniraltı suyuna etkisi, *Gıda*, **20** (6), 371-382.
- Yetişmeyen, A., Çimer, A., Özer, M., Odabaşı, S. ve Deveci, O.**, 1998. Ultrafiltrasyon tekniği ile salamura Beyaz peynir üretiminde kalite üzerine değişik maya enzimlerinin etkisi, *Gıda*, **23**(1), 3-9.

EKLER

Ek A. Trinitrobenzensülfonikası ile serbest aminoasit miktarı ölçümü; Glisin farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. TNBS metodu uygulandı. Spektrofotometrede absorbanans ölçüldü. 1 mol TNBS reaktif grubunun 1 mol N'a eşdeğer olduğu kabul edildi (Bouton ve Grappin, 1994).

Tablo A.1. Çeşitli glisin konsantrasyonlarında ölçülen absorbanans değerleri

Glisin konsantrasyonu (mM)	Absorbans
0,1	0,086
0,25	0,232
0,5	0,4835
0,75	0,625
1	0,7405

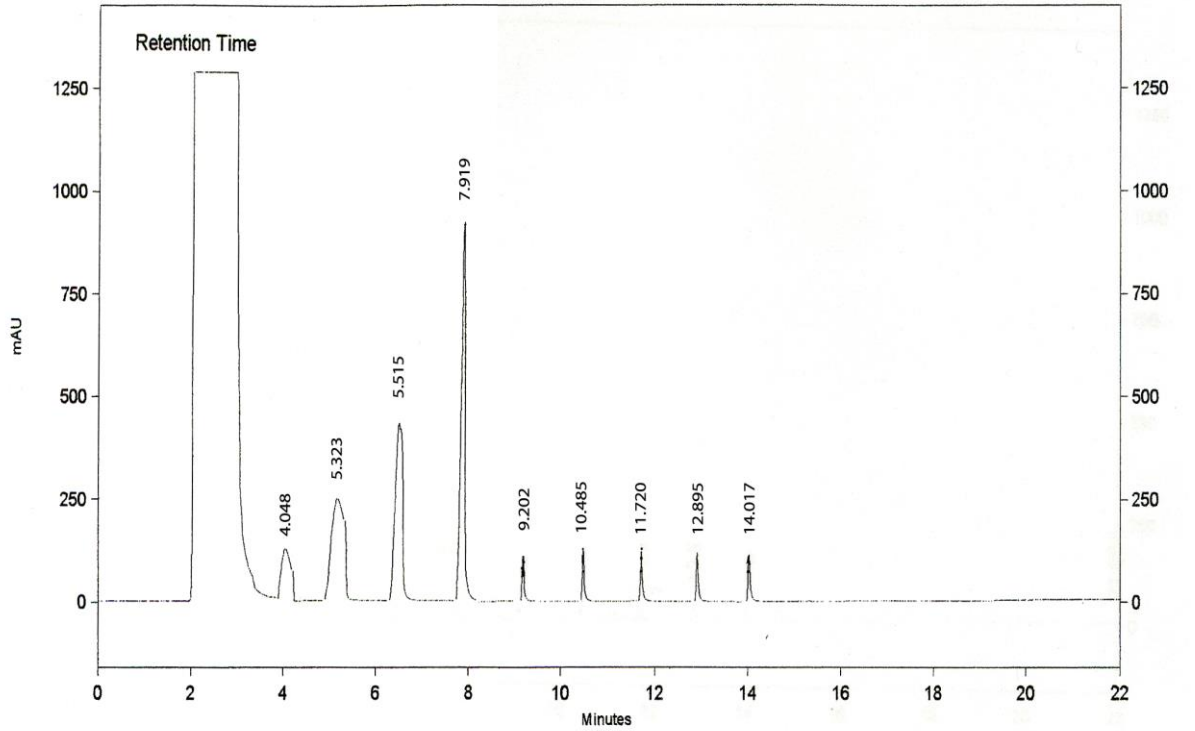


Şekil A.1. Çeşitli glisin konsantrasyonlarının, absorbanans değerlerine karşı grafiği

Ek B. Serbest yağ asidi standardı hazırlanması; Yağ asitlerinin tespitinde C:2, C:4, C:6, C:7, C:8, C:9, C:10, C:11 ve C:12 yağ asitleri kullanılarak standart hazırlandı. Standart çözeltisinden 1 ml, 9 ml hekzan içine alındı. Aynı programda enjeksiyon yapıldı.

Tablo B.1. Standart çözeltisindeki yağ asitlerinin alıkonma süreleri

Alıkonma Süresi (dk)	Yağ asidi
4.048	C4:0
5.323	C5:0
5.515	C6:0
7.919	C7:0
9.202	C8:0
10.485	C9:0
11.720	C10:0
12.895	C11:0
14.017	C12:0



Şekil B.1. Yağ asidi metil esterleri standart çözeltisi kromatogramı

Ek C

Tablo C.1. Geleneksel ve endüstriyel yöntemle üretilen Beyaz peynirlerde proteoliz değerleri

Yöntem	Süre (gün)	WSN (%TN)	TCA-SN (%TN)	TNBS (g N/kg TN)
Endüstriyel ¹	1	8,12±0,84	5,70±1,87	44,7±7,48
	30	11,6±0,94	7,29±1,65	91,1±22,15
	60	13,8±0,68	10,4±0,68	116,7±23,06
	90	16,1±0,63	12,4±0,74	198,8±20,39
Geleneksel ¹	1	7,97±0,72	3,8±0,18	43,5±5,35
	30	16,3±3,26	7,1±0,59	65,2±25,17
	60	19,9±5,16	7,2±1,00	157,3±44,01
	90	18,9±2,09	10,7±0,47	231,6±26,88

WSN: Suda çözünür azot

TCA-SN: Triklorosetik asit-çözünür azot

TNBS: Trinitrobenzensülfonik asit reaktif serbest amino grupları

¹ Tekrarların ortalaması ve standart sapması

Ek D**Tablo D.1.** Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde bulunan serbest yağ asidi miktarları

	Endüstriyel ¹				Geleneksel ¹			
	1.gün	30.gün	60.gün	90.gün	1.gün	30.gün	60.gün	90.gün
C6:0	2,05 ± 0,07	1,63 ± 0,12	2,31 ± 0,52	3,31 ± 0,20	4,19 ± 2,03	4,10 ± 2,40	4,54 ± 1,66	4,71 ± 1,96
C8:0	1,36 ± 0,06	1,11 ± 0,06	1,63 ± 0,43	2,11 ± 0,18	2,52 ± 1,29	2,64 ± 1,38	2,84 ± 0,88	2,84 ± 1,17
C10:0	2,88 ± 0,17	2,37 ± 0,10	3,54 ± 0,92	4,41 ± 0,49	5,35 ± 2,81	5,59 ± 2,75	6,02 ± 1,78	5,89 ± 2,40
C12:0	3,42 ± 0,29	2,80 ± 0,13	4,23 ± 1,12	5,12 ± 0,61	6,22 ± 3,18	6,41 ± 2,92	6,89 ± 1,81	6,77 ± 2,69
C14:0	10,5 ± 1,30	8,50 ± 0,55	13,5 ± 3,96	15,4 ± 1,79	19,3 ± 10,5	19,7 ± 9,25	21,0 ± 5,36	20,7 ± 9,17
C16:0	24,4 ± 4,30	19,1 ± 1,00	31,4 ± 11,2	34,8 ± 4,08	33,4 ± 7,96	40,8 ± 18,0	47,8 ± 11,5	46,8 ± 20,7
C18:0	5,12 ± 0,81	3,90 ± 0,17	7,98 ± 3,69	6,73 ± 1,39	10,5 ± 7,66	9,7 ± 4,73	11,0 ± 3,06	11,8 ± 8,25
C18:1	12,6 ± 1,74	10,1 ± 0,58	16,8 ± 5,03	17,2 ± 2,90	26,1 ± 17,1	26,4 ± 15,7	29,8 ± 8,85	26,7 ± 15,5
C18:2	1,48 ± 0,26	1,17 ± 0,09	2,05 ± 0,68	2,01 ± 0,35	3,02 ± 1,72	3,09 ± 1,66	3,30 ± 0,76	3,03 ± 1,41

¹ Üç tekrarın ortalama ve standart sapması

Ek E. İstatistiksel Analizler

Tablo E.1. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde nem sonuçlarının varyans analiz tablosu

NEM

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F değeri	P-değeri
Model	218,492	3	72,831	16,449	,001
TEKRAR	25,371	2	12,685	2,865	,115
METOT	193,122	1	193,122	43,616	,000
Hata	35,422	8	4,428		
Toplam	253,914	12			

Tablo E.2. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde nem / yağsız madde sonuçlarının varyans analiz tablosu

NEM / YAĞSIZ MADDE

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama	F değeri	P-değeri
Model	208,179	3	69,393	6,703	,014
TEKRAR	32,459	2	16,229	1,568	,266
METOT	175,721	1	175,721	16,975	,003
Hata	82,814	8	10,352		
Toplam	290,994	11			

Tablo E.3. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde yağ sonuçlarının varyans analiz tablosu

YAĞ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F değeri	P değeri
Model	21,562	3	7,187	13,800	,002
TEKRAR	1,542	2	,771	1,480	,284
METOT	20,021	1	20,021	38,440	,000
Hata	4,167	8	,521		
Toplam	25,729	11			

Tablo E.4. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde yağ / kuru madde sonuçlarının varyans analiz tablosu

YAĞ / KURU MADDE

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	34,933	3	11,644	,891	,400
TEKRAR	15,477	2	7,738	,592	,576
METOT	19,457	1	19,457	1,489	,257
Hata	104,563	8	13,070		
Toplam	139,496	11			

Tablo E.5. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde tuz sonuçlarının varyans analiz tablosu

TUZ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	,364	3	,121	8,836	,013
TEKRAR	3,401E-02	2	1,700E-02	1,238	,355
METOT	,281	1	,281	20,479	,004
Hata	8,240E-02	6	1,373E-02		
Toplam	,446	9			

Tablo E.6. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde tuz / nem sonuçlarının varyans analiz tablosu

TUZ / NEM

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	6,769 ^a	3	2,256	26,245	,001
TEKRAR	,471	2	,235	2,738	,143
METOT	5,281	1	5,281	61,428	,000
Hata	,516	6	8,597E-02		
Toplam	7,285	9			

Tablo E.7. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde toplam azot sonuçlarının varyans analiz tablosu

TOPLAM AZOT

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	,482	3	,161	10,852	,003
TEKRAR	,149	2	7,427E-02	5,018	,039
METOT	,333	1	,333	22,519	,001
Hata	,118	8	1,480E-02		
Toplam	,600	11			

Tablo E.8. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde protein / kuru madde sonuçlarının varyans analiz tablosu

PROTEIN / KURU MADDE

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	30,910	3	10,303	8,234	,008
TEKRAR	24,545	2	12,272	9,808	,007
METOT	6,366	1	6,366	5,087	,054
Hata	10,010	8	1,251		
Toplam	40,921	11			

Tablo E.9. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde pH sonuçlarının varyans analiz tablosu

PH

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	2,208 ^a	6	,368	17,441	,000
TEKRAR	,265	2	,133	6,287	,009
ZAMAN	3,281E-02	3	1,094E-02	,518	,675
METOT	1,910	1	1,910	90,515	,000
Hata	,359	17	2,110E-02		
Toplam	2,566	23			

Tablo E10. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde asitlik sonuçlarının varyans analiz tablosu

ASİTLİK

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	2,029	6	,338	5,116	,004
TEKRAR	,178	2	8,890E-02	1,345	,287
ZAMAN	,911	3	,304	4,595	,016
METOT	,940	1	,940	14,224	,002
Hata	1,124	17	6,609E-02		
Toplam	3,152	23			

Tablo E.11. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde TCA-çözünür azot sonuçlarının varyans analiz tablosu

TCA-ÇÖZÜNÜR AZOT

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	166,600	6	27,767	19,529	,000
ZAMAN	147,959	3	49,320	34,688	,000
METOT	18,183	1	18,183	12,789	,002
TEKRAR	,458	2	,229	,161	,852
Hata	24,170	17	1,422		
Toplam	190,771	23			

Tablo E.12. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde suda çözünür azot sonuçlarının varyans analiz tablosu

SUDA ÇÖZÜNÜR AZOT

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	436,625	6	72,771	13,653	,000
TEKRAR	31,359	2	15,679	2,942	,080
ZAMAN	336,923	3	112,308	21,070	,000
METOT	68,344	1	68,344	12,822	,002
Hata	90,612	17	5,330		
Toplam	527,237	23			

Tablo E.13. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde toplam serbest amino grupları sonuçlarının varyans analiz tablosu

TOPLAM SERBEST AMİNO GRUPLARI

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	102314,269	6	17052,378	20,948	,000
TEKRAR	181,088	2	90,544	,111	,895
ZAMAN	101306,162	3	33768,721	41,483	,000
METOT	827,018	1	827,018	1,016	,328
Hata	13838,584	17	814,034		
Toplam	116152,852	23			

Tablo E.14. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C6:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu

C6 YAĞ ASİDİ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	40,866	6	6,811	5,082	,005
TEKRAR	14,130	2	7,065	5,271	,018
ZAMAN	4,812	3	1,604	1,197	,345
METOT	26,021	1	26,021	19,415	,001
Hata	20,104	15	1,340		
Toplam	60,970	21			

Tablo E.15. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C8:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu

C8 YAĞ ASİDİ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	13,114	6	2,186	4,332	,010
TEKRAR	4,559	2	2,280	4,518	,029
ZAMAN	1,498	3	,499	,990	,424
METOT	8,406	1	8,406	16,660	,001
Hata	7,568	15	,505		
Toplam	20,682	21			

Tablo E.16. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C10:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu

C10 YAĞ ASİDİ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	55,208	6	9,201	4,093	,012
TEKRAR	18,727	2	9,363	4,165	,036
ZAMAN	5,779	3	1,926	,857	,485
METOT	36,032	1	36,032	16,028	,001
Hata	33,721	15	2,248		
Toplam	88,929	21			

Tablo E.17. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C12:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu

C12 YAĞ ASİDİ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	66,125	6	11,021	3,867	,016
TEKRAR	20,589	2	10,295	3,612	,052
ZAMAN	7,267	3	2,422	,850	,488
METOT	44,247	1	44,247	15,526	,001
Hata	42,747	15	2,850		
Toplam	108,872	21			

Tablo E.18. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C14:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu

C14 YAĞ ASİDİ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	646,408	6	107,735	3,593	,021
TEKRAR	216,658	2	108,329	3,613	,052
ZAMAN	61,187	3	20,396	,680	,578
METOT	422,061	1	422,061	14,076	,002
Hata	449,763	15	29,984		
Toplam	1096,171	21			

Tablo E.19. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C16:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu

C16 YAĞ ASİDİ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değer	P-değeri
Model	2460,692	6	410,115	3,746	,018
TEKRAR	559,530	2	279,765	2,555	,111
ZAMAN	722,282	3	240,761	2,199	,131
METOT	1420,848	1	1420,848	12,978	,003
Hata	1642,204	15	109,480		
Toplam	4102,896	21			

Tablo E.20. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C18:0 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu

C18 YAĞ ASİDİ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	271,214	6	45,202	2,961	,041
TEKRAR	111,482	2	55,741	3,651	,051
ZAMAN	23,417	3	7,806	,511	,681
METOT	158,730	1	158,730	10,397	,006
Hata	229,014	15	15,268		
Toplam	500,228	21			

Tablo E.21. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C18:1 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu

C18:1 YAĞ ASİDİ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değer	P-değeri
Model	1477,996	6	246,333	3,446	,024
TEKRAR	409,060	2	204,530	2,861	,089
ZAMAN	389,343	3	129,781	1,815	,188
METOT	826,151	1	826,151	11,557	,004
Hata	1072,303	15	71,487		
Toplam	2550,299	21			

Tablo E.22. Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen Beyaz peynirlerde C18:2 yağ asidi sonuçlarının varyans analiz tablosu

C18:2 YAĞ ASİDİ

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama	F-değeri	P-değeri
Model	18,284	6	3,047	3,764	,017
TEKRAR	5,876	2	2,938	3,629	,052
ZAMAN	,852	3	,284	,351	,789
METOT	12,984	1	12,984	16,038	,001
Hata	12,144	15	,810		
Toplam	30,427	21			

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İstanbul’da doğdu. 1996 yılında Çemberlitaş Kız Süper Lisesinden mezun oldu. 1996-2000 yıllarında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünde lisans eğitimi aldı. 2001 yılında İstanbul Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünde Yüksek Lisans eğitimine başladı.

